

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE MATEMÁTICA, ASTRONOMÍA, FÍSICA Y COMPUTACIÓN

ESPECTROSCOPÍA DE ALTA RESOLUCIÓN UTILIZANDO
HIPERPOLARIZACIÓN CON PARAHIDRÓGENO

AUTOR:

Ignacio Prina

DIRECTOR:

Dr. Rodolfo Acosta

7 de marzo de 2017



Universidad
Nacional
de Córdoba



Facultad
de Matemática,
Astronomía, Física
y Computación



Espectroscopía de alta resolución utilizando hiperpolarización con parahidrógeno por Ignacio Prina, se distribuye bajo Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 2.5 Argentina.

Índice general

1. Objetivos y motivación	1
2. Estructura de la tesis	2
3. RMN e Hiperpolarización	3
3.1. Elementos básicos	8
3.1.1. Hamiltoniano e interacciones	13
3.1.1.1. Par de espines magnéticamente equivalentes-Triplete/Singlete	15
3.1.1.2. Par de espines débilmente y fuertemente acoplados-AX y AB	17
3.1.2. Matriz Densidad y Ecuación de Liouville-von Neumann	18
3.1.2.1. Base de Operadores	23
3.1.3. Isómeros de espín: Para y ortohidrógeno	24
4. Hiperpolarización con parahidrógeno	28
4.1. PASADENA y ALTADENA	29
4.1.1. Esquema de niveles y poblaciones en PHIP	29
4.1.2. Formalismo de la matriz densidad en PHIP	32
4.1.2.1. Dos espines acoplados	33
4.1.2.2. PASADENA con tres o mas espines acoplados	41
4.2. Experimental	43
4.2.1. Preparación del pH_2	43
4.2.2. Hidrogenación	44
4.2.2.1. Catalizador	46
4.2.2.2. Molécula producto	47
4.2.2.3. Experimento PHIP	49

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	III
5. CPMG y Espectroscopía-J	56
5.1. CPMG	56
5.2. Espectroscopía- J	57
5.2.1. Espectros- J Parciales	63
5.2.2. Consideraciones experimentales	66
5.3. PhD-PHIP	71
5.3.1. Mecanismos subyacentes	74
5.3.2. PhD-PHIP a campo alto	80
5.3.3. PhD-PHIP a campo bajo	82
5.3.4. PhD-PHIP en Gases	93
6. Conclusión y perspectivas	97
A. Generador de parahidrógeno y oxidación del catalizador	99
Bibliografía	108
Índice de tablas	109
Índice de figuras	116

Capítulo 1

Objetivos y motivación

La baja intensidad de una señal en un experimento de Resonancia Magnética Nuclear, producto de la escasa polarización, motiva la utilización de diferentes métodos de hiperpolarización. En esta tesis nos dedicaremos al método de hiperpolarización inducida con parahidrógeno (o PHIP por sus siglas en ingles), el cual involucra una reacción química de hidrogenación de una molécula orgánica no-saturada utilizando el isómero de espín *para* de la molécula de hidrógeno en estado gaseoso. Si bien esta técnica posee varias ventajas, no solo con respecto a la intensidad de la señal obtenida sino también el bajo costo que presenta comparada con otras técnicas de hiperpolarización, la señal obtenida presenta una gran dependencia a las inhomogeneidades del campo magnético en el que se realiza la medición y esto puede afectar destructivamente a la señal PHIP.

El objetivo principal de la tesis es la implementación de secuencias de pulsos especializadas en detectar este tipo de señales hiperpolarizadas para obtener espectros de alta resolución, evitando no solo la pérdida de intensidad debido a la inhomogeneidad del campo magnético, sino también a la interferencia con señales térmicamente polarizadas.

Para validar la técnica desarrollada en este trabajo, se utilizaron diferentes tipos de molécula y arreglos experimentales. Además, se probó la técnica en campos magnéticos altos y bajos, donde la dinámica de espín es considerablemente diferente. Se incluye un desarrollo teórico detallado de los procesos involucrados y la validación de los experimentos con simulaciones numéricas.

Capítulo 2

Estructura de la tesis

Esta tesis está estructurada en 4 capítulos de la siguiente forma:

Capítulo 3 *RMN e Hiperpolarización.*

Se presentan los conceptos básicos de la RMN (pulsos, señales, etc.) e hiperpolarización, así como también un desarrollo teórico mas detallado utilizando la matriz densidad y los Hamiltonianos pertinentes. Por último se introducen los isómeros de espín de la molécula de hidrógeno (orto-parahidrógeno).

Capítulo 4 *Hiperpolarización con parahidrógeno.*

En primera instancia se presenta la técnica de PHIP de forma sencilla. Luego se muestra una descripción mas detallada utilizando el concepto de matriz densidad y su evolución con la Ecuación de Liouville von-Neumann, esquemas de arreglos experimentales, resultados obtenidos y simulaciones.

Capítulo 5 *CPMG y Espectroscopía- J .*

Se presenta la espectroscopía- J , de manera analítica, numérica y experimental. Por otro lado, se presentan las diferentes aplicaciones de la técnica a campo magnético alto y bajo. Por ultimo, se realizan simulaciones para analizar la posibilidad de utilizar la técnica desarrollada en sistemas gaseosos.

Capítulo 6 *Conclusiones y perspectivas futuras.*

Se resumen las principales conclusiones obtenidas y se muestran las perspectivas futuras que se tiene al finalizar esta tesis.

Capítulo 3

RMN e Hiperpolarización

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se encuentra entre las técnicas analíticas más potentes utilizadas para la caracterización de materiales a un nivel microscópico. Sus aplicaciones en la ciencia y la tecnología son muy variadas e incluyen, entre otros, a la química, la biología, control de calidad de alimentos y estudios ambientales de plantas y suelos. También se utiliza en la determinación de estructuras porosas, lo cual tiene un gran impacto en la industria petrolera. Además la RMN es quizás la técnica de diagnóstico más potente utilizada en la medicina actual. A pesar de todas estas aplicaciones, existe un gran inconveniente en su aplicación debido a la baja sensibilidad inherente de las señales que pueden ser detectadas. Este problema se origina debido al minúsculo tamaño de los momentos magnéticos nucleares, lo que resulta en un pequeño desequilibrio en la polarización del espín nuclear, incluso en campos magnéticos altos. Tradicionalmente, la RMN se ha ocupado de la excitación y la detección de los momentos angulares de los espines nucleares en equilibrio térmico con el campo magnético estático externo. La intensidad de la señal de RMN es proporcional a la diferencia de población de estados cuánticos que resultan de la diferencia de energía en los niveles y está dada por $\gamma B_0/k_B T$, donde γ es la razón giromagnética nuclear, B_0 es la intensidad del campo magnético externo, T es la temperatura absoluta y k_B es la constante de Boltzmann. Este exceso de población puede ser descripto por la polarización P . Para los núcleos de espín $1/2$, P es la diferencia de población entre los dos estados de energía N_+ y N_- sobre toda la población de espines, es decir:

$$P = \frac{N_+ - N_-}{N_+ + N_-}. \quad (3.1)$$

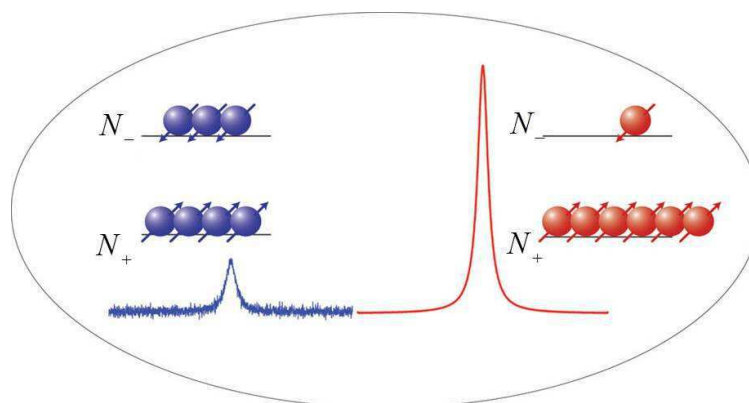


Figura 3.1: Esquema de un sistema de dos niveles. (Izquierda) Polarización térmica. (Derecha) Hiperpolarización

Por ejemplo, en una muestra de agua a temperatura ambiente, en presencia de un campo magnético $B_0 = 4.7$ T, la polarización del protón ^1H será $P = 1.6 \times 10^{-5}$. Esto resulta en una diferencia población para los protones de solo 1 en 62500.

A continuación se presenta a modo de introducción el fenómeno de la hiperpolarización, el cual será descrito en detalle en los capítulos subsiguientes. Los métodos más comunes para mejorar la polarización, y por lo tanto la intensidad de la señal adquirida, son los llamados métodos de polarización por *fuerza bruta*, y se basan en el uso de campos magnéticos de gran intensidad y/o sondas de baja temperatura. Sin embargo, esto no solo resulta en equipos de RMN costosos y complejos, sino que en general las bajas temperaturas imposibilitan el estudio de muchos sistemas físicos, por ejemplo estudios fisiológicos.

Un enfoque alternativo para mejorar la polarización es llevar al sistema a un estado metaestable (de no-equilibrio), donde se aumenta externamente la diferencia de población, es decir, se hiperpolariza el sistema. En la Fig. 3.1 se esquematiza este fenómeno, para el caso de dos niveles de energía. Si se logra obtener un sistema de espines con esta configuración energética el aumento de la señal de RMN es evidente pero también temporalmente acotado, ya que el sistema siempre intentará volver a la configuración de baja energía, es decir, el equilibrio térmico de Boltzmann.

Diferentes métodos han sido desarrollados en los últimos años para obtener sistemas hiperpolarizados. Entre los mas usuales se encuentra la polarización con laser (LP) de gases nobles a través de bombeo óptico [1–4], la polarización nuclear dinámica (DNP) [5–7] o polarización nuclear dinámica inducida químicamente (CIDNP) [8,9] y la hiperpolarización inducida

por parahidrógeno (Parahydrogen Induced Polarization o PHIP) [10–13], entre otros. Los métodos de hiperpolarización son de gran importancia en la fase gaseosa, donde la baja densidad de los gases hace que las señales sean aún más bajas en comparación con el estado líquido. Así, los gases nobles polarizados con laser (^3He y ^{129}Xe) son particularmente adecuados para ser utilizados en aplicaciones médicas, principalmente en la realización de imágenes del pulmón humano. El helio es un gas perfectamente inerte que puede ser inhalado en grandes cantidades sin efectos en el organismo con una bajísima solubilidad en sangre y puede alcanzar señales hiperpolarizadas de hasta en un 70 % [1, 14, 15]. El Xenón se puede disolver en los líquidos, entrar en la corriente sanguínea y ser utilizado para obtener información detallada de los tejidos de los pulmones [16, 17]. También es posible transferir la hiperpolarización a otros núcleos utilizando secuencias de pulsos adecuadas [18, 19], ciclado de campo adiabático [20] o utilizando los niveles de energía cruzados conocidos como *levels avoiding crossing* [21, 22]; y fuera del campo de la química y la medicina, es posible utilizar el estado cuántico, generado luego de la reacción química, en el contexto de la información cuántica [23, 24].

En esta tesis nos dedicaremos solamente al método de hiperpolarización con PHIP, el cual se basa en una reacción química, donde los protones, que provienen originalmente del gas enriquecido en su estado para, o parahidrogeno (pH_2), se depositan en un compuesto orgánico no-saturado, (con dobles o triples enlaces entre carbonos) antes de la adquisición de la señal de RMN, lo que resulta en una molécula con un sitio hiperpolarizado específico. Este proceso es una hidrogenación, y puede llevarse a cabo tanto en presencia del campo magnético en el cual se realiza el experimento de RMN, proceso conocido como PASADENA (**P**arahydrogen and **S**ynthesis **A**llow **D**ramatically **E**nhanced **N**uclear **A**lignment) [10], o fuera del mismo, donde el campo magnético es poco intenso y se conoce como ALTADENA (**A**diabatic **L**ongitudinal **T**ransport **A**fter **D**issociation **E**ngenders **N**et **A**lignment) [11] (ver Fig. 3.2). En esta tesis, a no ser que se aclare lo contrario, cuando nos referimos a señales hiperpolarizadas o PHIP, siempre será para el caso PASADENA, que es de la forma en la cual se realizaron la mayoría de los experimentos, análisis y simulaciones.

La principal característica, así como el principal problema, es que si bien la señal PHIP posee una gran intensidad debido a la hiperpolarización, el espectro adquirido bajo esta condición es de carácter antifase (ver Fig. 3.2). Esto resulta en un evidente problema a la hora de

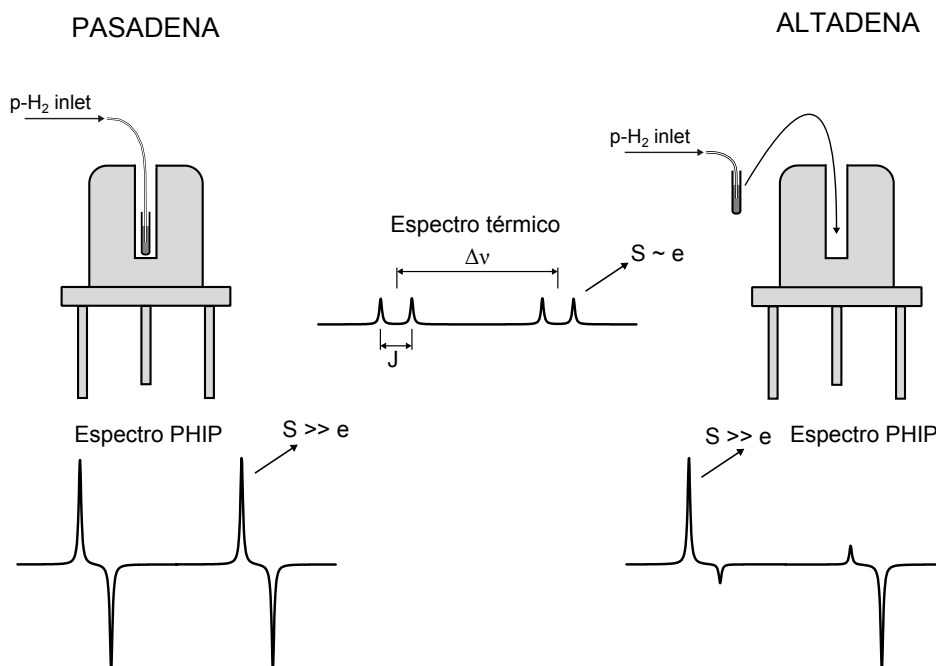


Figura 3.2: Esquema de los diferentes tipos de hidrogenación con parahidrógeno y las diferencias en los espectros de RMN obtenidos

realizar experimentos en campos magnéticos poco homogéneos donde la cancelación parcial de la señal resultará no solo en una baja de intensidad sino también en una deformación del espectro, llevando a una mala interpretación de los valores reales de los acoplamientos J , los cuales son de suma importancia a la hora de realizar análisis estructurales de compuestos.

En la figura 3.3 se muestran simulaciones de una señales de RMN térmica (en fase) y PHIP (antifase). Para ello se simulan dos espines débilmente acoplados con una inhomogeneidad de campo magnético modelada por la convolución de las señales con una función Lorentziana de diferentes anchos medios (FWHM=2, 10, 20, 40 Hz) Fig. 3.3 (A). Para evidenciar la perdida de señal debido a la cancelación parcial de los picos en el espectro PHIP, se grafican las integrales de los espectros térmicos y PHIP en función de los diferentes FWHM (ver 3.3 (B)). Esto demuestra que la inhomogeneidades de campo magnético afectan tanto a la resolución como a la intensidad de los espectros de señales hiperpolarizadas con parahidrógeno.

Una forma de solucionar este problema es utilizar lo que comúnmente se conocen como ecos de espín, que consisten en secuencias de pulsos de radio frecuencia con las cuales es posible eliminar la inhomogeneidades del campo magnético refocalizando la magnetización. La secuencia propuesta por Carr y Purcell en 1954 [25] y luego modificada por Meiboom

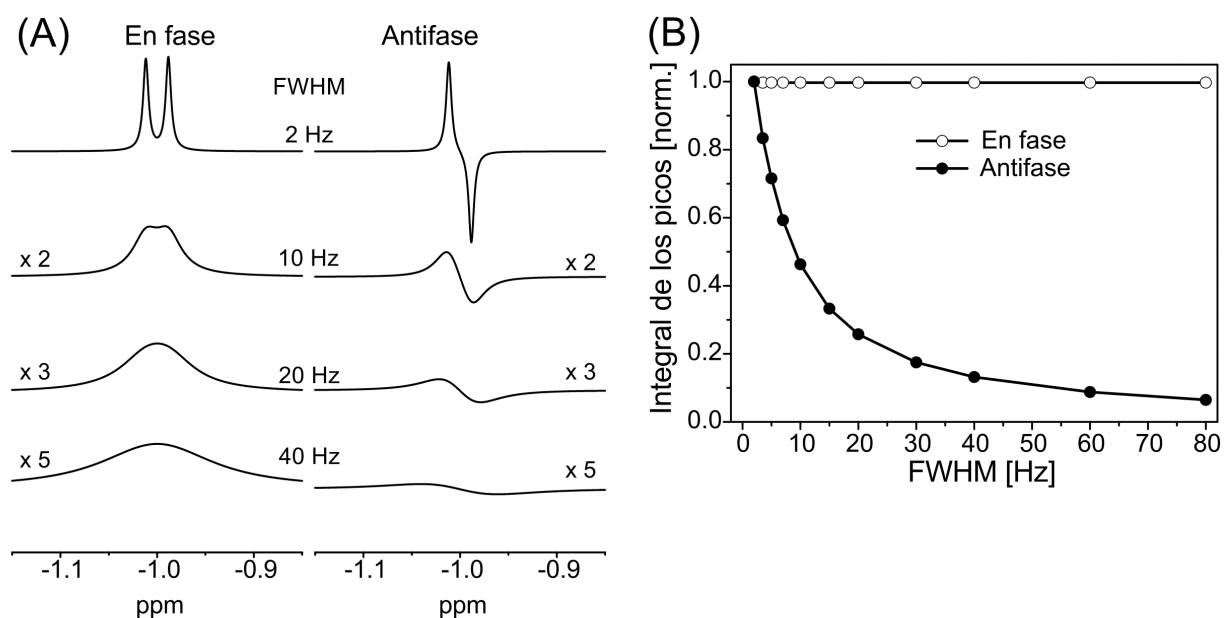


Figura 3.3: Esquema del efecto de la inhomogeneidades de campo en las señales térmicas y PHIP. (A) Espectros simulados con diferentes FWHM. (B) Integrales de los espectros en función de los FWHM, se puede apreciar como la señal PHIP disminuye su intensidad a medida que el campo es mas inhomogeneo.

y Gill cuatro años después [26] es la mas usada y se conoce como CMPG (**C**arr-**P**urcell-**M**eiboom-**G**ill). Bajo ciertas condiciones experimentales y el correcto procesamiento de los datos obtenidos (los cuales se describen en detalle en el Cap. 5), es posible obtener una señal de RMN donde las inhomogeneidades del campo magnético no son visibles y donde solo se aprecia la modulación por los acoplamientos- J . Esto se conoce como espectroscopía- J [27] y en esta tesis se utilizó, de manera novedosa, para obtener espectros PHIP con mayor resolución sin perder la intensidad de la señal [28].

El capítulo está organizado de la siguiente manera. En primer lugar se revisan los aspectos básicos de la RMN descriptos de manera sencilla y se presentan las herramientas necesarias para entender una señal de RMN. Luego se analizan las diferentes interacciones de espín con los Hamiltonianos relevantes y la evolución de la matriz densidad utilizando la ecuación de Liouville-von Nuemann. Finalmente, se describe la molécula de hidrógeno y los isómeros para/orto de la misma.

3.1. Elementos básicos

Para entender las ventajas y los problemas que conlleva esta técnica de hiperpolarización, es necesario realizar un breve resumen de la técnica de RMN.

Como se mencionó anteriormente, la resonancia magnética nuclear es un fenómeno físico basado en una propiedad cuántica de los núcleos atómicos llamada espín o momento angular intrínseco. Todos los núcleos que poseen número impar de protones o neutrones tienen espín distinto de cero el cual está asociado a un momento magnético $\vec{\mu} = \gamma \hbar \vec{I}$.

El momento angular de una partícula con espín es un vector que, en los casos más generales, puede apuntar en cualquier dirección del espacio. Si se coloca la muestra (por ejemplo agua) en presencia de un campo magnético externo constante en la dirección z ($\vec{B}_0 = B_0 \hat{k}$), el ensamble de espines (los protones ^1H) se alinearán con el campo y comenzarán a precesar con una frecuencia $\omega_0 = \gamma B_0$ llamada frecuencia de Larmor. Esto define la polarización P anteriormente descrita, la cual es posible manipular utilizando pulsos de radio frecuencia (pulsos de r.f.) y así obtener una señal de RMN.

Se puede tratar este problema utilizando una descripción cuántica sencilla. Para ello, definimos una base de operadores en la cual se describe el Hamiltoniano del sistema, en este

caso, un ensamble de espines $1/2$ no interactuantes en un campo magnético externo en la dirección z .

Dado que el operador I^2 conmuta con todas las componentes del momento angular total \vec{I} , en particular con I_z , se puede trabajar con la base común a ambos. Sean m los autovalores de I_z con $2I + 1$ valores posibles. Entonces en presencia del campo magnético externo, el núcleo adquirirá una energía de interacción dada por el Hamiltoniano (Hamiltoniano Zeeman),

$$\mathcal{H}_z = -\vec{\mu}\vec{B}_0 = -\hbar\gamma B_0 I_z. \quad (3.2)$$

Si elegimos el campo externo en la dirección z del sistema de referencia, los autovalores del Hamiltoniano del sistema son

$$E_m = -\gamma m \hbar B_0. \quad (3.3)$$

Por lo tanto, existirán dos niveles de energías posibles donde la diferencia de energía está dada por $\Delta = \hbar\omega_0$. Es posible detectar este espectro discreto de autovalores mediante alguna forma de absorción espectral, lo cual se logra aplicando un campo alterno de radio frecuencia (r.f.) perpendicular al campo \vec{B}_0 . Si se considera este campo en la dirección x , con una amplitud B_1 y frecuencia angular ω , es necesario incluir un término adicional al Hamiltoniano total del sistema de la forma,

$$\mathcal{H}_{rf} = -\hbar\gamma B_1 I_x \cos(\omega t). \quad (3.4)$$

Debido a que el operador I_x se puede escribir como una combinación de los operadores I_{+-} , es posible mezclar estados cuyos números cuánticos m difieran en la unidad siempre y cuando se cumpla la condición que la frecuencia ω sea igual a diferencia de energía entre los niveles, es decir, la condición de resonancia $\hbar\omega \approx \Delta E = \hbar\omega_0$.

Se define la magnetización neta que posee un sistema de espines en presencia de un campo magnético estático en función de la polarización P (ec. 3.1) como:

$$M_0 = \frac{\gamma\hbar(N_+ + N_-)}{2}P, \quad (3.5)$$

la cual puede ser manipulada a través de campos de r.f. utilizando el Hamiltoniano de la ec.3.4 y de esta forma obtener información del sistema de espines.

Una herramienta matemática muy usada en RMN es la transformación del sistema de referencia fijo en el laboratorio a una terna rotante para eliminar la dependencia temporal

del Hamiltoniano de espín debido a la presencia del campo de r.f. Este cambio de coordenadas de un sistema a otro es equivalente a ver a los espines desde un sistema que rota alrededor del eje del campo externo y de esta forma el campo de r.f. será independiente del tiempo.

El método para observar la señal de resonancia magnética o FID (Free Induction Decay) es bastante sencillo. Luego de colocar la muestra en el campo estático en condiciones de equilibrio térmico, habrá un exceso de magnetización \vec{M}_0 en la dirección del campo estático. Aplicando un campo de r.f. perpendicular a \vec{B}_0 de magnitud B_1 durante un tiempo t_p , esta magnetización comenzará a rotar con un ángulo $\theta = \gamma B_1 t_p$. Si se aplica un pulso de ángulo $\theta = \pi/2$ en la dirección x , luego de finalizada su acción, la magnetización rotará en el plano xy y precesará a la frecuencia de Larmor, induciendo una corriente en la bobina que generará una *fem* que puede ser amplificada y detectada. La *fem* inducida no va a persistir indefinidamente, la interacción de los espines con el ambiente la hará decaer, y esto es lo que se observa en el experimento. El decaimiento puede durar del orden de los milisegundos en líquidos y en sólidos es más típico que el decaimiento sea alrededor de las centenas de microsegundos. Así, la señal detectada $s(t)$ en el sistema rotante puede ser modelada como:

$$\begin{aligned} M_x(t) &= +M_0 \cos(\Omega t) e^{-t/T_2^*} \\ M_y(t) &= -M_0 \sin(\Omega t) e^{-t/T_2^*}, \end{aligned} \quad (3.6)$$

donde $\Omega = \omega - \omega_0$ y T_2^* es el tiempo de decaimiento de la señal, el cual depende de las inhomogeneidades de campos magnéticos externos y locales. El espectro de RMN se obtendrá aplicándole a la señal digitalizada el algoritmo de Transformada Rápida de Fourier o FFT por sus siglas en inglés, lo que resulta en un espectro de RMN,

$$S(\omega) = \int s(t) e^{-i\omega t} dt, \quad (3.7)$$

el cual depende de las diferentes frecuencias ω presentes en la FID de la muestra (ver Fig. 3.4). Se define la relación señal-ruido $RSR = S(\Omega)/R \sim \sqrt{N}$, donde N es el número de adquisiciones que se realizan y R es el ruido de la señal. Así, es necesario aumentar el número de adquisiciones para obtener la relación señal-ruido deseada, lo cual no solo precisa tiempo sino que también requiere estabilidad del sistema para promediar señales que sean iguales.

En la Figura 3.4 se puede ver un ejemplo de espectro de RMN en protones de etanol. Los diferentes picos del espectro se deben a los diferentes protones de la muestra que están siendo

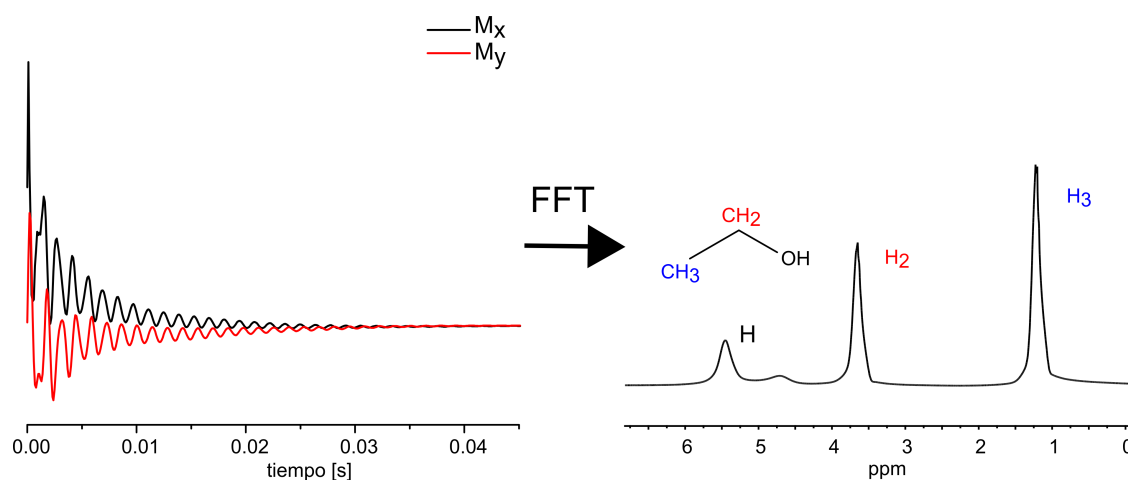


Figura 3.4: Espectro ^1H de etanol. **(Izquierda)** Parte real e imaginaria de la FID obtenida luego del pulso de rf. **(Derecha)** Espectro luego de realizar la FFT, donde se discrimina cada pico correspondiente a las diferentes frecuencias de resonancia de la molécula. El decaimiento de la señal depende del tiempo de relajación T_2^* el cual afectará directamente el ancho de línea lw del espectro de RMN.

detectados los cuales poseen diferente entorno químico por el apantallamiento ocasionado por los electrones del núcleo del campo magnético estático. Este fenómeno se conoce como *desplazamiento químico* y produce una leve diferencia en la frecuencia de resonancia. El corrimiento químico se suele expresar en partes por millón (ppm) y se considera con respecto a una sustancia de referencia a la cual se le asigna cero ppm.

Un hecho importante a destacar es que el espectro de etanol que se muestra es de baja resolución, es decir, no es posible apreciar la estructura interna de cada pico, la cual devela información sumamente relevante del sistema de espines. Esta información faltante proviene de los llamados acoplamientos- J entre los protones de la molécula, que son el resultado de las interacciones entre las nubes electrónicas de cada núcleo. En la Fig. 3.5 se muestra un espectro simulado de etanol de alta resolución. El pico correspondiente a los dos protones del grupo CH_2 se encuentra desdoblado en un cuatriplete, ya que cada uno de ellos está acoplado con los tres hidrógenos del grupo CH_3 . Lo mismo ocurre con el pico del grupo CH_3 , pero en este caso se desdobra en un triplete debido a acoplamiento con los dos protones del grupo CH_2 . No se considera el grupo OH para este análisis, ya que la falta de resolución de ese pico se debe al intercambio o *exchange* del protón con el medio y la dinámica de este proceso es varios ordenes de magnitud superior a los accesibles por RMN. En la sección siguiente se

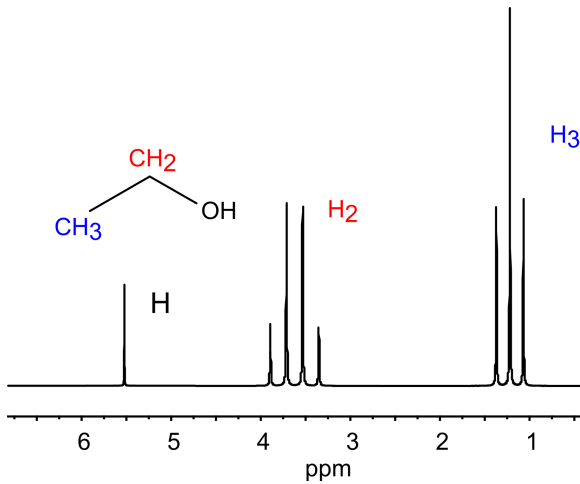


Figura 3.5: Espectro simulado ^1H de etanol con $lw = 1 \text{ Hz}$.

describen estas interacciones en mas detalle.

La baja resolución de un espectro de RMN esta relacionado directamente con la inhomogeneidad del campo magnético externo B_0 . En este punto es importante resaltar la diferencia entres los tiempos T_2 y T_2^* , tan usados y nombrados en la literatura de RMN. El tiempo T_2 es el tiempo de decaimiento de la magnetización transversal (M_{xy}) que proviene de las interacciones naturales a niveles atómicos y/o moleculares del sistema de espines. Sin embargo, en un experimento usual de RMN como el que se muestra en la Figura 3.4, el tiempo de relajación transversal es mucho mas corto, es decir, la señal decae mucho mas rápido de lo que se predice por los mecanismos naturales de relajación. Esta tasa de decaimiento es la que comúnmente se conoce como T_2^* y puede ser considerada como el T_2 observado o efectivo el cual depende directamente de la inhomogeneidades del campo magnético externo ΔB_i , en otras palabras, es el factor que determinará el ancho de linea lw de un espectro usual. La relación entre estos dos tiempos de decaimiento puede escribirse matemáticamente como,

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \gamma \Delta B_i. \quad (3.8)$$

En general, para líquidos isotrópicos (todas las muestra que se utilizaron en este trabajo) $T_1 = T_2 \gg T_2^*$. Por lo tanto, si fuera posible medir una señal de RMN que dependiera solamente T_2 , el ancho de linea del espectro resultante evidenciaría una mejora notable. Afortunadamente, es posible hacerlo utilizando lo que se conoce comúnmente como *ecos de espín* y en el Capítulo 5 se describirá detalladamente este fenómeno.

3.1.1. Hamiltoniano e interacciones

En la sección anterior se describe el sistema de espines $1/2$ no interactuantes en presencia en una campo magnético externo. Una descripción mas completa del fenómeno de resonancia magnética implica la consideración tanto de las interacciones internas entre los espines nucleares como las externas y su evolución utilizando la ecuación de Liouville-von Neumann.

Podemos escribir todas las interacciones de un sistema de espines con un Hamiltoniano total \mathcal{H} de la forma:

$$\mathcal{H} = \underbrace{\mathcal{H}_z + \mathcal{H}_{rf}}_{\text{interacciones externas}} + \underbrace{\mathcal{H}_D + \mathcal{H}_{dq} + \mathcal{H}_J + \mathcal{H}_Q}_{\text{interacciones internas}}, \quad (3.9)$$

donde \mathcal{H}_z es Hamiltoniano Zeeman, \mathcal{H}_{rf} es el Hamiltoniano de radio frecuencias. Tanto el Hamiltoniano Dipolar \mathcal{H}_D como el Hamiltoniano de acoplamiento cuadrupolar eléctrico \mathcal{H}_Q no se considerarán para la descripción, ya que las interacciones dipolares promedian a cero en líquidos isotrópicos y los núcleos observados son protones ($S = 1/2$) los cuales no poseen momento cuadrupolar eléctrico.

Por lo tanto, el Hamiltoniano relevante del sistema corresponderá a las interacciones externas antes mencionadas más los términos \mathcal{H}_{dq} y \mathcal{H}_J , que son el desplazamiento químico y el acoplamiento indirecto espín-espín o acoplamiento- J , respectivamente. Se puede escribir explícitamente los términos de interacción internas y externas de un ensamble de N espines $1/2$ de la forma [29,30],

$$\mathcal{H} = 2\pi \sum_j^N \nu_j I_j^z + 2\pi \sum_{j < k}^N J_{jk} \mathbf{I}_j \cdot \mathbf{I}_k, \quad (3.10)$$

donde ν_j son los diferentes desplazamientos químicos de cada espín y J_{jk} son los acoplamientos entre los espines j y k , ambos medidos en Hz.

Para obtener los autovalores del sistema es necesario diagonalizar este Hamiltoniano y para ello debemos elegir una base pertinente. La base usual utilizada es la base Zeeman o desacoplada. Sea $|m_i\rangle$ el autovector del operador I_i^z con autovalor $m_i = \pm 1/2$, entonces existirán 2^N elementos de la forma $|m_1\rangle \otimes |m_2\rangle \otimes \dots \otimes |m_N\rangle = |m_1, m_2, \dots, m_N\rangle$.

El caso mas simple, pero de gran utilidad, ocurre cuando $N = 2$, es decir, dos espines acoplados con una constante de acoplamiento J_{12} , con desplazamientos químicos ν_1 y ν_2 que se encuentran en presencia de un campo magnético $\vec{B}_0 = B_0 \hat{k}$. Así, la eq. 3.10 para dos

espines es,

$$\mathcal{H} = 2\pi\nu_1 I_1^z + 2\pi\nu_2 I_2^z + 2\pi J_{12} \mathbf{I}_1 \cdot \mathbf{I}_2. \quad (3.11)$$

La base Zeeman o producto tendrá 4 elementos, $[|\alpha\alpha\rangle, |\alpha\beta\rangle, |\beta\alpha\rangle, |\beta\beta\rangle]$, donde la notación α indica un valor de momento angular en z del espín I_1 definido $1/2$ y β un valor de momento angular en z del espín I_2 . La función de ondas del sistema será una superposición de todos los estados,

$$|\Psi\rangle = c_{\alpha\alpha} |\alpha\alpha\rangle + c_{\alpha\beta} |\alpha\beta\rangle + c_{\beta\alpha} |\beta\alpha\rangle + c_{\beta\beta} |\beta\beta\rangle \quad (3.12)$$

donde las constantes c_{kl} son tal que $\sum |c_{kl}|^2 = 1$ para todo k, l .

Es posible reescribir el Hamiltoniano \mathcal{H} en esta base como la suma de dos Hamiltonianos, uno diagonal \mathcal{H}^A y otro con términos no diagonales \mathcal{H}^B utilizando las relaciones,

$$\begin{aligned} \mathbf{I}_1 \cdot \mathbf{I}_2 &= I_1^x I_2^x + I_1^y I_2^y + I_1^z I_2^z \\ I_1^x I_2^x + I_1^y I_2^y &= \frac{1}{2} (I_1^+ I_2^- + I_1^- I_2^+) . \end{aligned} \quad (3.13)$$

De esta forma la ec. 3.11 resulta en,

$$\mathcal{H} = \underbrace{2\pi\nu_1 I_1^z + 2\pi\nu_2 I_2^z + 2\pi J_{12} I_1^z I_2^z}_{\mathcal{H}^A} + \underbrace{\pi J_{12} (I_1^+ I_2^- + I_1^- I_2^+)}_{\mathcal{H}^B} \quad (3.14)$$

Y la representación matricial será:

$$\begin{aligned} \mathcal{H}^A &= \frac{\pi}{2} \begin{pmatrix} 2(\nu_1 + \nu_2) + J_{12} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 2(\nu_1 - \nu_2) - J_{12} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 2(-\nu_1 + \nu_2) - J_{12} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -2(\nu_1 + \nu_2) + J_{12} \end{pmatrix} \\ \mathcal{H}^B &= \frac{\pi}{2} \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 2J_{12} & 0 \\ 0 & 2J_{12} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}. \end{aligned} \quad (3.15)$$

Consideremos ahora dos casos fundamentales que ayudarán a introducir el fenómeno de hiperpolarización con parahidrógeno.

3.1.1.1. Par de espines magnéticamente equivalentes-Triplete/Singlete

Si dos espines acoplados inmersos en un campo magnético poseen la misma frecuencia de resonancia, es decir el mismo desplazamiento químico $\nu_1 = \nu_2 = \nu$, entonces se dice que los espines son magnéticamente equivalentes y normalmente se conoce como sistema A_2 . Existen infinitud de sistemas que cumplen esta condición, pero el caso mas paradigmático es el de la molécula de hidrógeno H_2 , la cual consiste en solo dos protones acoplados y se describirá con detalle mas adelante. Por ahora pensemos en un sistema abstracto que cumple estas condiciones. De esta forma, la representación matricial 3.15 se reescribirá como,

$$\mathcal{H}_{A_2} = \frac{\pi}{2} \begin{pmatrix} 4\nu + J_{12} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -J_{12} & 2J_{12} & 0 \\ 0 & 2J_{12} & -J_{12} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -4\nu + J_{12} \end{pmatrix}. \quad (3.16)$$

Esta matriz es nodiagonal, por lo tanto $[|\alpha\alpha\rangle, |\alpha\beta\rangle, |\beta\alpha\rangle, |\beta\beta\rangle]$ no son autovectores del Hamiltoniano del sistema. En cambio, es posible elegir una base que diagonalice esta matriz conocida como base Triplete/Singlete o base suma, que no es otra cosa que una combinación lineal normalizada de la base Zeeman de la forma:

$$\text{Triplete} \begin{cases} |T_{+1}\rangle = |\alpha\alpha\rangle \\ |T_0\rangle = \frac{1}{\sqrt{2}} (|\alpha\beta\rangle + |\beta\alpha\rangle) \\ |T_{-1}\rangle = |\beta\beta\rangle \end{cases} \quad (3.17)$$

$$\text{Singlete} \begin{cases} |S_0\rangle = \frac{1}{\sqrt{2}} (|\alpha\beta\rangle - |\beta\alpha\rangle) \end{cases} \quad (3.18)$$

Por lo tanto, la matriz \mathcal{H}_{A_2} quedará,

$$\mathcal{H}_{A_2} = \frac{\pi}{2} \begin{pmatrix} 2\nu + \frac{1}{2}J_{12} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{2}J_{12} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -2\nu + \frac{1}{2}J_{12} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -\frac{3}{2}J_{12} \end{pmatrix} \quad (3.19)$$

y los estados $[|T_{+1}\rangle, |T_0\rangle, |T_{-1}\rangle, |S_0\rangle]$ serán autoestados del par de espines magnéticamente equivalentes.

Debido a que los tres estados triplete del par de espines $1/2$ se comportan de manera similar a tres estados de un espín con $I = 1$, es posible definir un operador momento angular total I que sea la suma de las diferentes proyecciones de cada espín,

$$\begin{aligned} I_x &= I_1^x + I_2^x \\ I_y &= I_1^y + I_2^y \\ I_z &= I_1^z + I_2^z, \end{aligned} \tag{3.20}$$

donde el momento angular total al cuadrado se construye de la forma,

$$I^2 = I_x^2 + I_y^2 + I_z^2. \tag{3.21}$$

Por lo tanto las tres autofunciones del triplete cumplen las ecuaciones de autovalores,

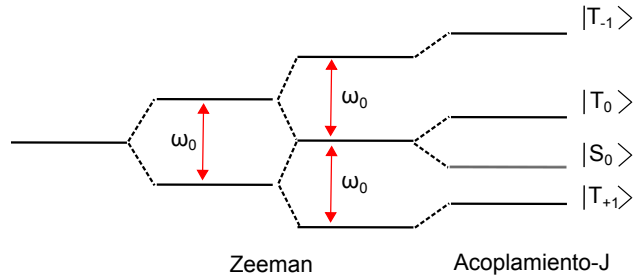
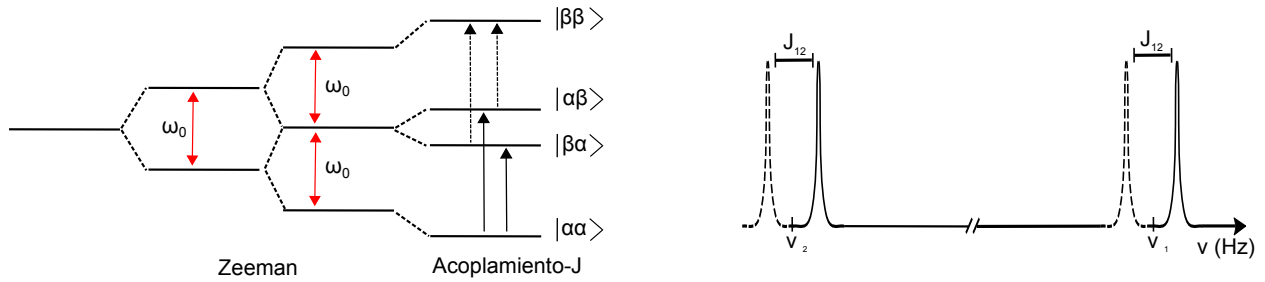
$$\begin{aligned} I_z |T_M\rangle &= M |T_M\rangle \\ I^2 |T_M\rangle &= 2 |T_M\rangle, \end{aligned} \tag{3.22}$$

donde M es igual a 1, 0, o -1.

En el caso del singlete, el sistema de espines acoplados se comporta como un núcleo de espín $I = 0$ con autoecuaciones,

$$\begin{aligned} I_z |S_0\rangle &= 0 \\ I^2 |S_0\rangle &= 0, \end{aligned} \tag{3.23}$$

con cuatro niveles de energía disponibles, tres que corresponden a un espín total $I = 1$ y uno a $I = 0$. Este último es no-magnético ya que su proyección de espín es nula, es decir, no interactúa ni con el campo magnético externo ni con los pulsos de r.f. aplicados, y por lo tanto no se puede obtener señal de RMN. El estado singlete, usualmente ignorado dentro de la RMN, será de suma importancia a la hora de entender la técnica de PHIP. Los tres niveles restantes provienen de la interacción Zeeman de un espín con el campo magnético la cual genera una separación (splitting) $\omega_0 = 2\pi\nu$ que a su vez se separan nuevamente debido a la interacción Zeeman del espín restante. El acoplamiento- J rompe la degeneración aumentando la energía de cada nivel en una dirección como se muestra en la Fig. 3.6. El espectro de RMN resultante consistirá en un solo pico centrado en ω_0 , por ejemplo, en un espectro de H_2O o de H_2 , donde no es posible distinguir el acoplamiento entre los protones.

**Figura 3.6:** Esquema de niveles de un sistema de espines A_2 **Figura 3.7:** Esquema de niveles y espectros de RMN de un sistema de espines AX con $J > 0$ y $\gamma > 0$

3.1.1.2. Par de espines débilmente y fuertemente acoplados- AX y AB

Siguiendo con el análisis de espines acoplados, el siguiente caso a analizar es el de dos espines débilmente acoplados o comúnmente llamado sistema AX . Se dice que dos espines se encuentran débilmente acoplados si la diferencia entre sus desplazamientos químicos es mucho mayor al acoplamiento- J entre ambos, o lo que es lo mismo,

$$\Delta\nu = |\nu_1 - \nu_2| \gg \frac{1}{2} |J_{12}|. \quad (3.24)$$

De esta forma, es posible simplificar el Hamiltoniano de la ec. 3.14 utilizando la *aproximación secular* (ver Apéndice A.6 [29]) y descartar el término \mathcal{H}^B . Resultando en un Hamiltoniano de la forma,

$$\mathcal{H}_{AX} = 2\pi\nu_1 I_1^z + 2\pi\nu_2 I_2^z + 2\pi J_{12} I_1^z I_2^z, \quad (3.25)$$

donde tanto los términos Zeeman como el de acoplamiento- J son diagonales en la base producto $[|\alpha\alpha\rangle, |\alpha\beta\rangle, |\beta\alpha\rangle, |\beta\beta\rangle]$ y por lo tanto conmutan entre sí. El sistema estará formado por cuatro niveles con cuatro transiciones posibles (ver Fig 3.7). Por lo tanto el espectro de RMN estará formado por dos pares de picos, donde la separación entre picos esta dada

por la constante de acoplamiento- J y la separación entre los pares por la diferencia entre desplazamiento químico $\Delta\nu$.

El caso en que la desigualdad 3.24 no se cumpla ($\Delta\nu = |\nu_1 - \nu_2| \approx \frac{1}{2} |J_{12}|$), se dice que los espines están fuertemente acoplados y se conoce como sistema AB. Esta situación difiere del sistema A_2 , ya que en este caso los espines no son magnéticamente equivalentes y por lo tanto ni la base Zeeman la ni la base triplete-singlete diagonalizarán el Hamiltoniano \mathcal{H} . Es posible resolver este problema exactamente y obtener los cuatro autovalores y cuatro autovectores del sistema (ver Apendice A.8 [29]). Luego de un pulso de r.f., el espectro de RMN consistirá en cuatro picos, donde la distancia entre ellos dependerá de la relación entre el acoplamiento- J y el desplazamiento químico. En la Fig. 3.8 se simularon, utilizando todo el Hamiltoniano \mathcal{H} , varios sistemas de espines para diferentes $\Delta\nu$ fijando el acoplamiento J_{12} en 10 Hz en presencia de un campo de 7 Tesla. Se puede apreciar como el espectro se va deformando desde las dos condiciones limites A_2 a AX pasando por el sistema AB .

Es importante aclarar que, aunque este sistema modelo de dos espines aislados acoplados es útil para entender ciertos experimentos y la señales PHIP, la mayoría de los experimentos realizados en esta tesis corresponden a sistemas mucho mas complejos, por ejemplo en la molécula de etanol de la Fig. 3.4 existen seis protones de los cuales cinco están acoplados entre sí. De esta forma, es necesario introducir el formalismo de matriz densidad, que permite trabajar y entender sistemas de espines de mayor tamaño.

3.1.2. Matriz Densidad y Ecuación de Liouville-von Neumann

El tratamiento de un sistema aislado de espines de la sección anterior puede ser útil como primera aproximación, pero si pensamos en una muestra real macroscópica, existen muchos espines (aproximadamente 10^{23}) y por lo tanto es necesario introducir la noción de matriz densidad de un ensamble de espines. El formalismo de matriz u operador densidad es muy utilizado como herramienta fundamental para calcular señales de RMN luego de una dada secuencia de pulsos de r.f. [29, 30]. Comenzando con la evolución del estado cuántico normalizado $|\Psi(t)\rangle$ con un Hamiltoniano \mathcal{H} , se puede escribir la ecuación de Schrödinger como,

$$\frac{d}{dt} |\Psi(t)\rangle = -i\hbar \mathcal{H} |\Psi(t)\rangle. \quad (3.26)$$

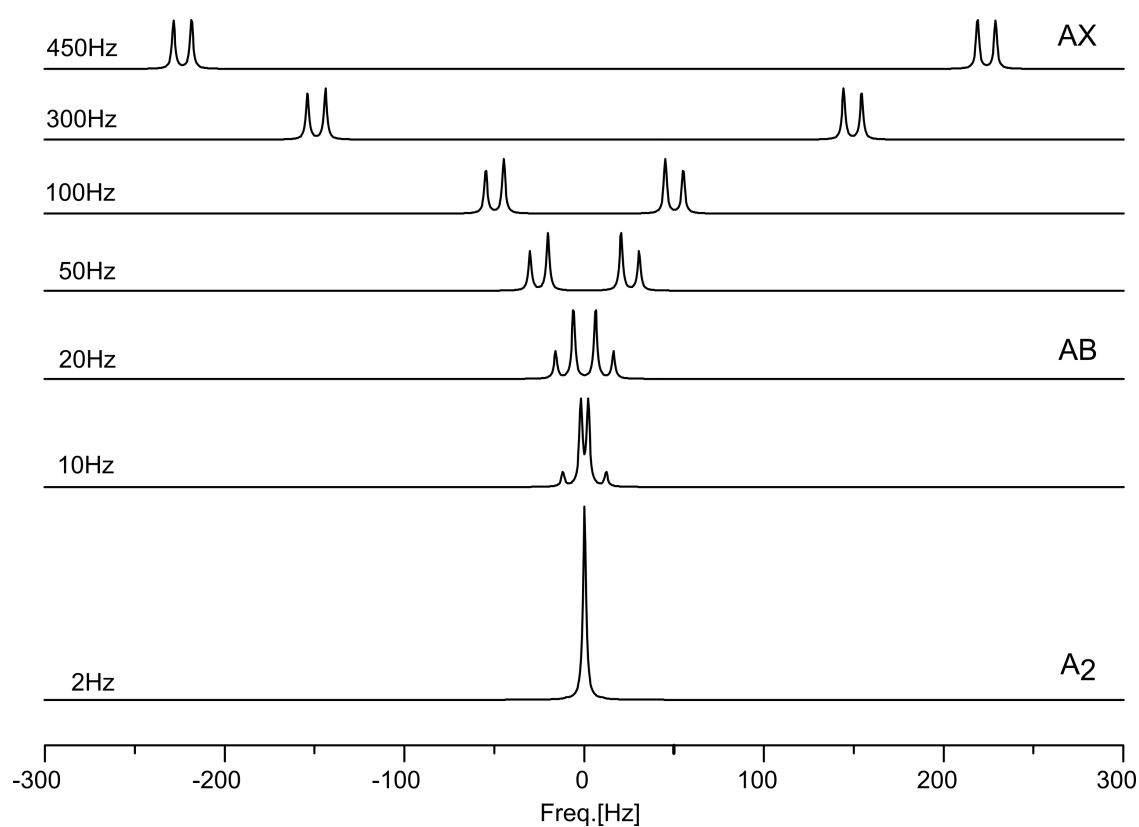


Figura 3.8: Simulaciones de espectros de RMN de en un sistema de dos espines acoplados con $J_{12} = 10$ Hz en un campo de 7 Tesla. Si la separación es $\Delta\nu = 450$ Hz, obtenemos un sistema puramente a *AX* y si $\Delta\nu = 2$ Hz el resultado es un sistema de espines magnéticamente equivalentes y por lo tanto el espectro será un solo pico. Cualquier caso intermedio podrá ser visto como un sistema *AB*. Los detalles de la simulación de explicarán mas adelante.

Si expandimos el autoestado $|\Psi(t)\rangle$ del sistema en una base ortonormal $|i\rangle$ se obtiene la ecuación:

$$|\Psi(t)\rangle = \sum_{i=1}^n c_i(t) |i\rangle. \quad (3.27)$$

Donde la dependencia temporal de $|\Psi(t)\rangle$ queda expresada en los coeficientes $c(t)_i$ y n es la dimensión del espacio de Hilbert.

Si todos los espines del sistema se encuentran en el mismo estado cuántico y pueden ser descriptos por la misma función de onda $|\Psi(t)\rangle$ decimos que el sistema se encuentra en un *estado puro* y la matriz densidad se define como,

$$\rho(t) = |\Psi(t)\rangle \langle\Psi(t)| = \sum_{i,j} c_i^*(t) c_j(t) |i\rangle \langle j|. \quad (3.28)$$

En caso contrario, por ejemplo un sistema de espines en equilibrio térmico, el estado se denomina *estado mezcla* y solo es posible conocer la probabilidad p^k de que el sistema se encuentre en uno de los posibles estados $|\Psi^k(t)\rangle$. Entonces, la matriz densidad se define como un promedio sobre todo el ensamble de espines de la forma,

$$\rho(t) = \sum_k p^k |\Psi^k(t)\rangle \langle\Psi^k(t)| = \underbrace{\sum_k p^k}_{=1} \sum_{i,j} c_i^k(t) c_j^{k*}(t) |i\rangle \langle j| = \sum_{i,j} \overline{c_i(t) c_j^*(t)} |i\rangle \langle j| \quad (3.29)$$

donde la barra denota el promedio sobre el ensamble y los elementos de la matriz densidad serán el producto de los elementos de la expansión de la función de onda $|\Psi(t)\rangle$, es decir,

$$\langle r | \rho(t) | s \rangle = \sum_k p^k c_r^k(t) c_s^{k*}(t) = \overline{c_r(t) c_s^*(t)}. \quad (3.30)$$

Los elementos de la diagonal,

$$\rho_{rr} = \langle r | \rho(t) | r \rangle = \overline{|c_r(t)|^2} = P_r, \quad (3.31)$$

representan la probabilidad de encontrar al sistema de espines en el estado $|r\rangle$ con población P_r . Fuera de la diagonal, los elementos se escriben como,

$$\rho_{rs} = \langle r | \rho(t) | s \rangle = \overline{c_r^k(t) c_s^{k*}(t)} \quad (3.32)$$

y representan la superposición coherente de los autoestados $c_r(t) |r\rangle + c_s(t) |s\rangle$. Esta superposición coherente es lo que comúnmente se conoce como *coherencia cuántica*. Estas coherencias

pueden ser asociadas a las transiciones entre los estados $|r\rangle$ y $|s\rangle$. Si los dos estados representan transiciones con diferencia en el número cuántico magnético $\Delta m_{rs} = m_r - m_s = \pm 1$, la coherencia ρ_{rs} esta relacionada con magnetización transversal con componentes $M^{\pm rs} = M_x^{\pm rs} \pm iM_y^{\pm rs}$. En general, un elemento de matriz ρ_{rs} representa una coherencia cuántica de orden p , con $p = M_r - M_s$, la cual solo será directamente detectable por RMN si $p = \pm 1$.

Se denotarán las coherencias cuánticas de orden $p = 0$ ($\Delta m_{rs} = 0$) como ZQ (Zero Quantum), las coherencias de orden $p = \pm 1$ como SQ (Single Quantum) y por último las de orden $p = \pm 2$ como DQ (Double Quantum).

Es posible reescribir la ecuación de Schrödinger ec. 3.26 para ρ de la forma,

$$\frac{d}{dt}\rho(t) = -i[\mathcal{H}, \rho], \quad (3.33)$$

resultado que se conoce como Ecuación de Liouville-von Neumann.

Resolver esta ecuación implica resolver la evolución temporal de estado ρ sobre el Hamiltoniano del sistema \mathcal{H} . Si \mathcal{H} no depende explícitamente del tiempo, tal es el caso de los Hamiltonianos que se consideraran en esta tesis ya que están descriptos sobre el sistema rotante, la ecuación anterior puede ser simplificada a,

$$\rho(t) = e^{-i\mathcal{H}t}\rho(0)e^{i\mathcal{H}t}, \quad (3.34)$$

donde $\rho(0)$ es el operador densidad inicial del sistema, es decir, antes de evolucionar con el Hamiltoniano \mathcal{H} .

Si pensamos en la representación matricial de ρ y \mathcal{H} , esta ecuación se resumen en rotaciones en el espacio de Hilbert del ensamble de espines donde todos los operadores son Hermitianos. Esta idea será de gran ayuda a la hora de entender no solo los experimentos de RMN y PHIP, sino también de realizar las simulaciones y cálculos numéricos para predecir los espectros de sistema complejos.

Comenzamos nuevamente con un ensamble de N -espines $1/2$ no interactuantes en equilibrio térmico en un campo magnético. En este caso, \mathcal{H} será el Hamiltoniano Zeeman total,

$$\mathcal{H}_z = -2\pi \sum_{k=1}^N \nu_k I_k^z. \quad (3.35)$$

Podemos escribir la matriz densidad del sistema en equilibrio térmico como,

$$\rho_{ter} \cong \frac{1}{2^N} \left(\mathbb{I} + \sum_{k=1}^N B_k I_k^z \right) \sim I_z \quad (3.36)$$

donde \mathbb{I} representa la identidad, $I_z = \sum_{k=1}^N B_k I_k^z$ y B_k el factor de Boltzmann del núcleo k .

Esta matriz solo tendrá elementos diagonales en la base Zeeman y por lo tanto no existirían coherencias cuánticas de ningún orden o dicho de otro modo, no habrá señal de RMN. Como se dijo anteriormente, para obtener una FID es necesario excitar al sistema con un pulso de r.f. Si utilizamos la ec. 3.34 con $H_{rf} = -\hbar 2\pi \nu_1 I_1^x$ resultará en una rotación unitaria del operador densidad ρ_{ter} en un ángulo de $\pi/2$ al rededor del eje x ,

$$\rho_r = e^{-i\frac{\pi}{2}I_x} \rho_{ter} e^{i\frac{\pi}{2}I_x} = -\frac{1}{2^N} \sum_{k=1}^N B_k I_k^y. \quad (3.37)$$

Donde se ha obviado el término correspondiente a la identidad, ya que no resulta afectado por los pulsos y no contribuirá a la magnetización resultante. Luego del pulso de r.f. el sistema evolucionará libremente en presencia del campo magnético durante un tiempo τ , esto resulta en una precesión sobre el eje z con frecuencia ω_k^0 y con tasas de relajación transversal y longitudinal T_2 y T_1 respectivamente. De esta forma, el operador densidad de una FID se escribe como,

$$\rho_f = \frac{1}{2^N} \sum_{k=1}^N B_k (1 - e^{-\tau/T_1}) I_k^z + B_k (-I_k^y \cos \omega_k^0 \tau + I_k^x \sin \omega_k^0 \tau) e^{-\tau/T_2}. \quad (3.38)$$

Solo resta calcular las diferentes componentes de la magnetización utilizando el estado final del sistema. Para ellos utilizamos la traza sobre los observables I_x , I_y e I_z , es decir,

$$\begin{aligned} M_x(\tau) &= Tr \left(\rho_f \sum_{k=1}^N I_k^x \right) = + \sum_{k=1}^N \sin \omega_k^0 \tau e^{-\tau/T_2} \\ M_y(\tau) &= Tr \left(\rho_f \sum_{k=1}^N i I_k^y \right) = - \sum_{k=1}^N \cos \omega_k^0 \tau e^{-\tau/T_2} \\ M_z(\tau) &= Tr \left(\rho_f \sum_{k=1}^N I_k^z \right) = 1 - e^{-\tau/T_1}. \end{aligned} \quad (3.39)$$

En el caso de espines acoplados el tratamiento es similar al mostrado anteriormente, pero ahora el Hamiltoniano del sistema tendrá un término adicional correspondiente al acoplamiento- J entre pares de espines. Por lo tanto \mathcal{H} se escribe como,

$$\mathcal{H} = -2\pi \sum_{k=1}^N \nu_k I_k^z + 2\pi \sum_{k<l} J_{k,l} \mathbf{I}_k \cdot \mathbf{I}_l. \quad (3.40)$$

La evolución de la matriz densidad del sistema luego del pulso de r.f con este Hamiltoniano es considerablemente mas complicada que la evolución con Hamiltoniano Zeeman, por tal

motivo, el tratamiento de este problema será de índole numérico y se analizará con mas detalle en la sección 4.1 y en el Cap. 5 para el caso de dos espines acoplados sobre un tren de pulsos de r.f.

3.1.2.1. Base de Operadores

Al trabajar con la ecuación de Liouville y la matriz densidad, es natural introducir el concepto de base de operadores.

En muchas situaciones, no es necesario considerar a toda la matriz densidad, ya sea porque ciertos elementos son irrelevantes para el observable en cuestión, o porque el número de grados de libertad es menor al número total de elementos de la matriz. En estos casos, vale la pena expandir el operador densidad $\rho(t)$ en términos de una base de operadores $\{B_s\}$ de la forma,

$$\rho(t) = \sum_{s=1}^{n^2} b_s(t) B_s. \quad (3.41)$$

Donde n es la dimensión del espacio de Hilbert expandido por n funciones independientes. Por lo tanto existirán n^2 operadores independientes B_s que expanden en un espacio llamado espacio de Liouville. Los operadores que actúan en este espacio se los llama *superoperadores*, ya que son operadores que actúan sobre otros operadores. Un ejemplo de esto es el conmutador en la Ecuación de Liouville.

La forma de expandir al operador densidad en una base $\{B_s\}$ depende de cada problema a tratar. La mas útil, cuando se lidia con sistemas de espines acoplados, es la base formada por operadores de momento angular I_k^x, I_k^y y I_k^z de cada espín k , donde se cumple siempre la relación de conmutación cíclica,

$$[I_k^\alpha, I_k^\beta] = iI_k^\gamma. \quad (3.42)$$

con $\alpha, \beta, \gamma = x, y, z$ y sus permutaciones cíclicas.

Para el caso de N espines $1/2$, B_s se define como el producto [30],

$$B_s = 2^{q-1} \prod_{k=1}^N (I_k^\alpha)^{\alpha_{ks}} \quad (3.43)$$

donde k = índice de núcleos, $\alpha = x, y$, o z , q =número de operadores en el producto, $\alpha_{ks} = 1$ para el q del espín, y $\alpha_{ks} = 0$ para los $N - q$ espines restantes.

Por lo tanto, la base completa y ortonormal $\{B_s\}$ para N espines $1/2$ consiste en 4^N operadores producto B_s . Por ejemplo, para dos espines $1/2$, existirán 16 operadores B_s de la forma,

$$\begin{aligned}
 q = 0 & \Rightarrow \frac{1}{2}\mathbb{I} \text{ (Identidad)} \\
 q = 1 & \Rightarrow I_1^x, I_1^y, I_1^z, I_2^x, I_2^y, I_2^z, \\
 q = 2 & \Rightarrow 2I_1^x I_2^x, 2I_1^x I_2^y, 2I_1^x I_2^z, \\
 & 2I_1^y I_2^x, 2I_1^y I_2^y, 2I_1^y I_2^z, \\
 & 2I_1^z I_2^x, 2I_1^z I_2^y, 2I_1^z I_2^z.
 \end{aligned} \tag{3.44}$$

Como se mostrará en la sección 5.3, este formalismo será de gran ayuda para calcular la evolución de la matriz densidad sobre la secuencia de pulsos CPMG para señales PHIP y térmicas, y de esta forma entender de manera analítica y mas completa el protocolo PhD-PHIP desarrollado durante este trabajo de tesis.

3.1.3. Isómeros de espín: Para y ortohidrógeno

Para entender el funcionamiento de la técnica de hiperpolarización utilizada en esta tesis, es necesario describir primero la molécula de hidrógeno H_2 y los diferentes isómeros de espines que presenta, el parahidrógeno pH_2 y el ortohidrógeno oH_2 .

Comenzando con la molécula de hidrógeno, la cual consiste en dos protones y dos electrones, en la aproximación Born-Oppenheimer de rotor-rígido, es posible escribir la función de onda total del sistema como el producto de cinco funciones de ondas independientes [31, 32] de la forma,

$$\Psi_{H_2} = \Psi_e^{orb} \Psi_e^s \Psi_n^{vib} \Psi_n^{rot} \Psi_n^s, \tag{3.45}$$

donde Ψ_e^{orb} describe el movimiento orbital de los electrones, Ψ_e^s al estado de espín electrónico, Ψ_n^{vib} y Ψ_n^{rot} el estado vibracional y rotacional nuclear, y Ψ_n^s corresponde al estado de espín nuclear.

En concordancia con el Principio de Exclusión de Pauli, la función de onda de cualquier molécula diatómica homonuclear tiene que ser antisimétrica respecto a la permutación de los núcleos con espín semientero y simétrica para permutaciones de núcleos con espín entero o cero. Esto resulta en una función de onda Ψ_{H_2} antisimétrica para los dos electrones, ya que el estado base electrónico $^1\Sigma_g^+$ es simétrico con respecto al intercambio de electrones, la

función de onda de espín electrónico es antisimétrica y el resto de las funciones de ondas son independientes de las variables y simetrías electrónicas. Por otro lado, tanto Ψ_e^{orb} como Ψ_e^s son simétricas con respecto a los núcleos y Ψ_n^{rot} es simétrica, ya que los estados vibracionales no se ven afectados por el intercambio de posiciones de los dos núcleos. Esto deja una dependencia de la simetría de toda la función de ondas al producto $(\Psi_n^{rot}\Psi_n^s)$. Se puede expresar el intercambio de los dos núcleos como una permutación P_{12} a la función de onda Ψ_n^{rot} ,

$$P_{12}(\Psi_n^{rot}) = (-1)^J \Psi_n^{rot} \quad (3.46)$$

donde J es el número cuántico rotacional. De esta forma se evidencia el hecho que para valores de J pares, Ψ_n^{rot} es simétrica y para valores de J impares Ψ_n^{rot} es antisimétrica. Así, la función de onda de espín nuclear puede ser simétrica o antisimétrica dependiendo de que función de onda rotacional se elija. Si pensamos en la molécula de hidrógeno como un sistema de espines acoplados A_2 (ver sec. 3.1.1.1), la elección natural de Ψ_n^s no es otra cosa que la base triplete-singlete. La tres funciones del triplete, que poseen espín total $I = 1$ son simétricas y el single de espín $I = 0$ es antisimétrica ante intercambio de núcleos. Por lo tanto, existen dos posibilidades para construir la función de onda total del H_2 para que cumpla el Principio de Pauli de ser antisimétrica ante el intercambio de núcleos, es decir, dos isómeros de espín. Si la función de ondas rotacional es simétrica y la de espín es antisimétrica S_0 , el isómero se conoce como *parahidrógeno* o pH_2 . Por otro lado, si la función de onda rotacional es antisimétrica y la de espín es simétrica $\{T_{+1}, T_0, T_{-1}\}$ ante intercambio de núcleos, el isómero se llama *ortohidrógeno* o oH_2 . Así, como las transiciones entre estados rotacionales pares e impares implican transiciones entre los estados tripletes y singletes del espín, las cuales están simétricamente prohibidas, la proporción de para-ortohidrógeno es cuasiestable a una dada temperatura y por lo tanto la conversión para-ortohidrógeno es extremadamente lenta. En 1929, Bonhoeffer and Harteck [33] descubrieron que en presencia de un catalizador, por ejemplo carbón activado u óxido de hierro, es posible alcanzar el equilibrio termodinámico en cuestión de minutos, permitiendo así una rápida modificación de la proporción de oH_2/pH_2 cuando se enfría o se calienta el gas H_2 . En la sección 4.2.1 se explicará detalladamente el proceso de forma experimental.

Es posible calcular la proporción exacta de oH_2/pH_2 a una dada temperatura si consideramos un ensamble de moléculas de H_2 utilizando mecánica estadística. Comenzando con la

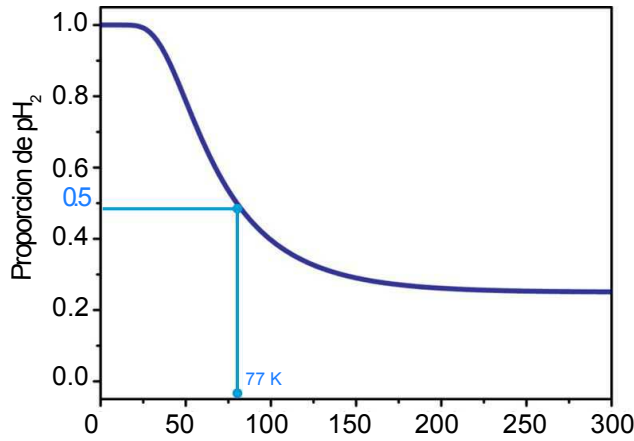


Figura 3.9: Cantidad de pH_2 en función de la temperatura del gas. Se observa que a 77 K la fracción de para-orto H_2 es aproximadamente la misma. Como se verá en el siguiente capítulo, esta cantidad es suficiente como para obtener una señal PHIP.

función partición del sistema,

$$Z = \sum_i d_i e^{-E_i/kT}, \quad (3.47)$$

donde d_i es la degeneración del nivel de energía E_i y T es la temperatura absoluta. Como se dijo anteriormente, solo es necesario considerar los estados rotacionales y de espín nuclear en la aproximación Born-Oppenheimer de rotor rígido, es decir, es posible desacoplar el movimiento electrónico del nuclear considerando a los núcleos fijos, ya que la masa de los núcleos es considerablemente mas grande y su velocidad muy pequeña en comparación con la de los electrones. Entonces, la energía rotacional se puede escribir como,

$$E_J = J(J+1) \frac{\hbar^2}{2I} \quad (3.48)$$

donde I es el momento de inercia de la molécula de hidrógeno. El primer intervalo de energía corresponde a la diferencia de energía entre los valores $E_{J=0} \rightarrow E_{J=1}$,

$$\Delta E_{J=0 \rightarrow J=1} = \hbar \times 37 \times 10^{12} Hz \quad (3.49)$$

el cual resulta mucho mas grande que la diferencia de energía de los estados nucleares. Por lo tanto, es posible simplificar la función partición considerando solo los estados rotacionales con una degeneración adicional correspondiente a los estados nucleares.

Los estados rotacionales se presentan con una población P_J de acuerdo a distribución de equilibrio de Boltzmann de la forma,

$$P_J = \frac{1}{Z} (2J+1) d_S e^{J(J+1)\Theta_r/kT} \quad (3.50)$$

donde Θ_r es la llamada *temperatura rotacional* y se define como $\Theta_r = \hbar^2/2Ik$.

A temperaturas muy bajas, menores de $T = 20$ K, solos los niveles correspondientes a $J = 0$ se encuentran poblados y por lo tanto, el 100 % del gas es parahidrógeno. A medida que la temperatura aumenta, los niveles superiores se irán poblando, y a temperatura ambiente ($T = 300$ K), los cuatro primeros niveles se encontrarán poblados y contribuirán a generar una fracción del gas en estado parahidrógeno y otra en estado ortohidrógeno.

Para obtener la cantidad de parahidrógeno $N_p H_2$ (u ortohidrógeno $1 - N_p H_2$) en equilibrio térmico para cualquier temperatura, es necesario considerar la población de todos los niveles rotacionales que poseen número cuántico J par. Utilizando la ec. 3.50, la proporción de pH_2 se escribe como,

$$N_{pH_2} = \frac{1}{Z} \sum_{J=par} (2J+1) d_S e^{J(J+1)\Theta_r/kT}. \quad (3.51)$$

En la Fig. 3.9 se gráfica esta ecuación. Se puede ver que para $T = 77K$, que es la temperatura de ebullición del nitrógeno líquido, la proporción de pH_2 y oH_2 es aproximadamente la misma. Por otro lado, a temperatura ambiente la fracción pH_2 es solo de un 25 % y la de oH_2 de un 75 %. Cabe aclarar que en este trabajo cuando nos referimos a experimentos hidrogenaciones con pH_2 , a no ser que se aclare lo contrario, corresponden a experimentos realizados con gas hidrógeno enriquecido en un 50 % de estado pH_2 .

Capítulo 4

Hiperpolarización con parahidrógeno

La técnica de hiperpolarización inducida con parahidrógeno o (PHIP) fue publicada por primera vez en Septiembre de 1987 por Bowers y Weitekamp [13] con el nombre *Parahydrogen and Synthesis Allow Dramatically Enhanced Nuclear Alignment* o comúnmente llamado PASADENA, y demostró una gran mejora en la intensidad de los espectro de ^1H en el producto luego de la incorporación de gas hidrógeno dentro del espectrómetro, enriquecido en su estado pH_2 , al educto. Las señales detectadas fueron del orden de 100 veces mayores si se comparaban con las señales adquiridas con la hidrogenación realizada con gas en equilibrio térmico a temperatura ambiente. Al siguiente año, Pravica y Weitekamp [11] lograron realizar la hidrogenación con parahidrógeno del doble enlace del estireno para obtener etilbenceno hiperpolarizado. La reacción química fue realizada fuera del espectrómetro a campo magnético bajo y luego se transportó la muestra adiabaticamente a la zona de detección dentro espectrómetro a campo magnético alto. El espectro obtenido de este experimento, si bien demostró las particularidad del fenómeno PHIP, fue sustancialmente diferente al realizado un año antes. Se pudieron observar dos multipletes separados en oposición de fase para los sitios de los dos protones del producto. Esta forma de realizar la hiperpolización con parahidrógeno se conoce como ALTADENA (Adiabatic Longitudinal Transport After Dissociation Engenders Net Alignment), donde el acrónimo hace referencia al proceso adiabático de transporte de la muestra luego reaccionar.

En este capítulo se muestra detalladamente la técnica de PHIP de forma analítica y experimental. Para ello se describe el proceso de preparación del pH_2 y las reacciones químicas llevadas a cabo en diferentes moléculas orgánicas no-saturadas. Por último se explica el

proceso de simulación de una reacción química y la obtención de forma numérica de un espectro de RMN utilizando Matlab.

4.1. PASADENA y ALTADENA

Como se dijo anteriormente, el parahidrógeno utilizando para realizar estos experimentos no posee señal de RMN por si solo, ya que el espín total del pH_2 es $I = 0$. Pero si se transfiere a una molécula en donde cada sitio de espín tiene diferente desplazamiento químico, es posible transformar al sistema en un sistema de espines AX o AB y de esta forma obtener señal de RMN. Esta transferencia no es otra cosa que una hidrogenación homogénea, donde el catalizador utilizado tiene que ser capaz que realizar el proceso con los dos protones a la vez de la misma molécula de pH_2 , ya que el incremento en la señal de RMN proviene de preservar su simetría.

4.1.1. Esquema de niveles y poblaciones en PHIP

Es posible entender PHIP intuitivamente si pensamos en un par de espines acoplados (secciones 3.1.1.1 y 3.1.1.2) y sus poblaciones en los cuatro niveles de energía. Asumiremos por el momento que el sitio en donde se deposita el pH_2 es un sistema AX asilado del resto de la molécula de destino.

Si la reacción se realiza con hidrógeno térmico, es decir con abundancia natural de pH_2 (25 % de pH_2 y 75 % de oH_2), los cuatro niveles del sistema A_2 estarán igualmente poblados con una población $P = 0.25$. En este caso, es indistinguible si la reacción ocurre dentro o fuera del imán, por lo tanto consideraremos que la hidrogenación se realiza en presencia de un campo magnético intenso B_0 , el cual genera una diferencia de población de acuerdo a Boltzmann $e = \hbar B_0 / kT_{exp}$, del orden de 10^{-5} para una muestra a temperatura ambiente. Luego de la reacción química, el sistema de espines se transforma en un sistema AX , donde las energías corresponden a la base Zeeman, ver Fig. 4.1.

Por otro lado, si la hidrogenación se realiza con gas hidrógeno enriquecido en su estado pH_2 , el resultado depende fuertemente del campo al que se realiza el experimento y podemos distinguir los dos casos antes mencionados. Sea ΔP el exceso de población debido al enriquecimiento con pH_2 , donde $\Delta P = 0$ corresponde a hidrógeno térmico y $\Delta P = 3P$ a

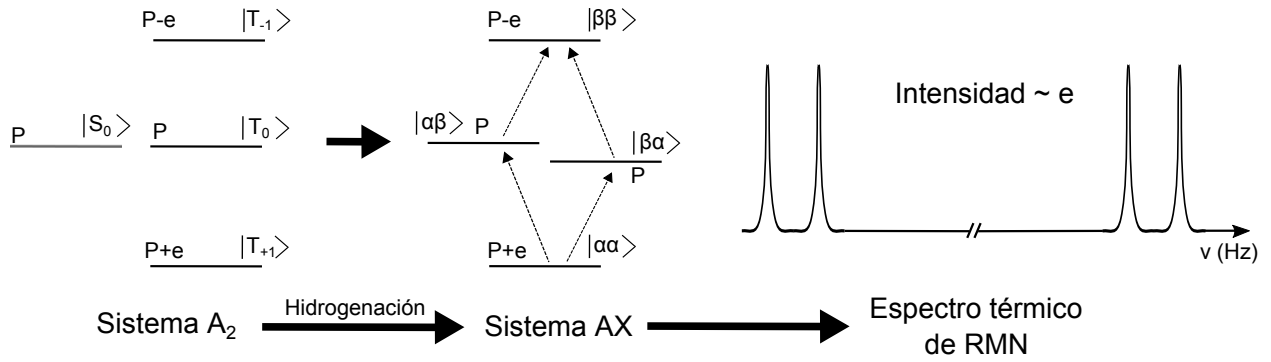


Figura 4.1: Esquema de la hidrogenación con abundancia natural de pH_2 . El sistema de espines los sufre una transformación de un sistema A_2 a uno AX resultando en un espectro de RMN similar al de la Fig.3.7 con una intensidad que depende del factor e . Notar que solo se grafican las señales provenientes del pH_2 y no el resto de la molécula.

parahidrógeno puro. Entonces, para el caso de PASADENA, antes de la reacción, la población del estado singlete $|S_0\rangle$ será $P + \Delta P$ y la del triplete $P - \Delta P$. Además los estados T_1 y T_{-1} tendrán una corrección en la población e debido a Boltzmann. Por lo tanto, existirá una diferencia sustancial de población entre estado singlete y el triplete, que solo se puede utilizar luego de la reacción, donde este exceso de población es transferido a los estados $|\alpha\beta\rangle$ y $|\beta\alpha\rangle$ de la molécula producto en el sistema AX . Como resultado, se obtienen un espectro de RMN con dos dobletes en antifase (ver Fig. 4.2), donde la intensidad de cada uno es $\frac{2}{3}\Delta P \pm e$. Debido a que ΔP es el orden de la unidad y $e \approx 10^{-5}$, la intensidad de un espectro PHIP será de 10^4 veces mas intenso que uno térmico (Fig. 4.1). Por supuesto que en este análisis no se consideraron aspectos de relajación y otras variables experimentales, pero es una buena aproximación para entender la potencia del método de PHIP y las ventajas que conlleva.

Si la hidrogenación ocurre fuera del imán, es decir, a campo magnético bajo (campo terrestre por ejemplo) y la muestra es transferida a la zona de medición dentro del espectrómetro de forma adiabática en el sentido que el estado inicial $|S_0\rangle$ es siempre autoestado del Hamiltoniano del sistema en cada campo magnético, el excedente de población ΔP terminará en autoestado $|\beta\alpha\rangle$ del sistema AX dentro del espectrómetro. De esta forma, el espectro de RMN será diferente al de la Fig. 4.2, y presentará solos dos picos en oposición de fase con intensidades $\frac{4}{3}\Delta P \pm e$ (ver Fig. 4.3).

Este tipo de análisis poblacional es una buena primera aproximación al fenómeno de PHIP,

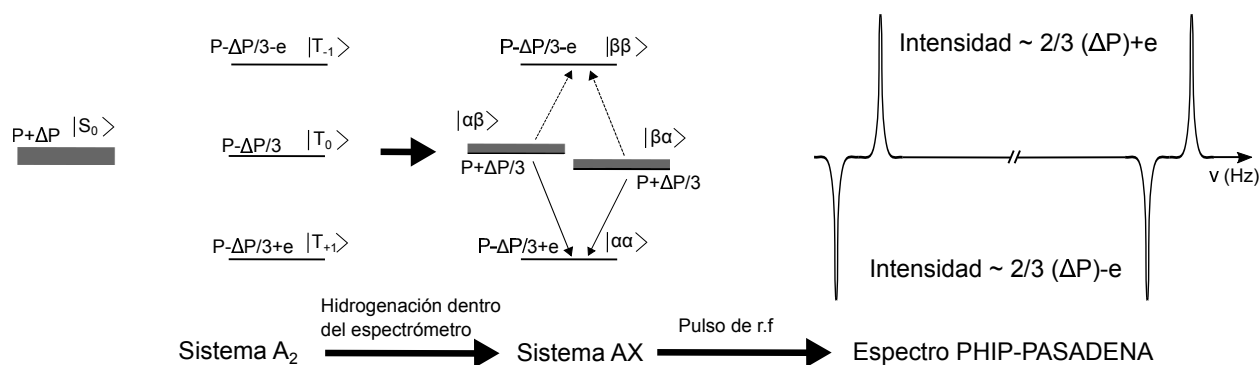


Figura 4.2: Esquema de la hidrogenación dentro del espectrómetro con hidrógeno enriquecido en su estado pH_2 .

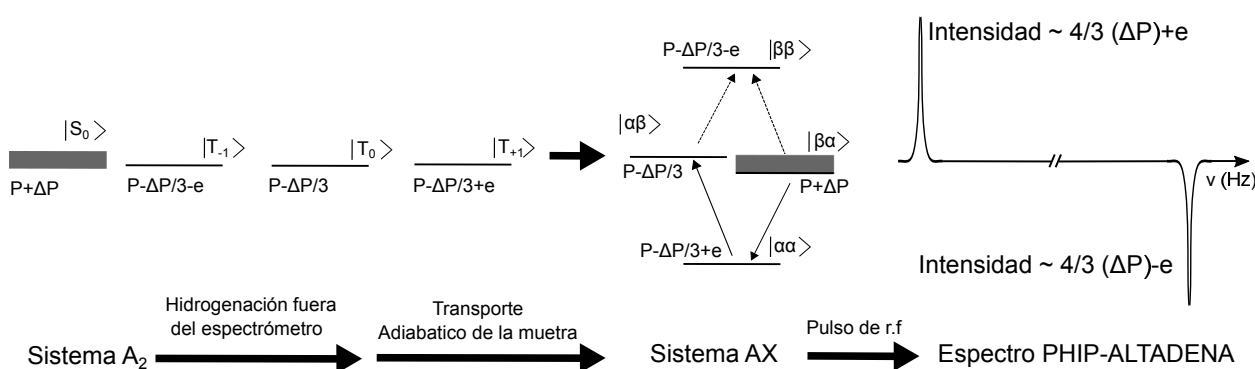


Figura 4.3: Esquema de la hidrogenación fuera del espectrómetro con hidrógeno enriquecido en su estado pH_2 . Si la transferencia de la muestra luego de la incorporación del hidrógeno se realiza adiabáticamente, el exceso de población proveniente del estado $|S_0\rangle$ se transfiere solo al nivel $|\beta\alpha\rangle$.

pero no es útil si se quiere aplicar en sistema reales, es decir, moléculas donde no solos los acoplamientos no son débiles, sino que tampoco existen dos espines aislados luego de que se realiza la hidrogenación. Es posible utilizar el formalismo de matriz densidad, anteriormente introducido, para generalizar la técnica de PHIP en sistemas con mayor número de espines y, por lo tanto, poder predecir resultados experimentales a través de cálculos numéricos.

4.1.2. Formalismo de la matriz densidad en PHIP

Es posible escribir la matriz densidad de cada estado de la molécula de hidrógeno utilizando la ecuación 3.28 con la base triplete-singlete,

$$\begin{aligned} |T_{+1}\rangle \langle T_{+1}| &= \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}, & |T_0\rangle \langle T_0| &= \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \\ |T_{-1}\rangle \langle T_{-1}| &= \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, & |S_0\rangle \langle S_0| &= \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 \\ 0 & -1 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}. \end{aligned} \quad (4.1)$$

Se puede escribir cada una de estas matrices en la base de operadores producto (ec. 3.44) como,

$$\begin{aligned} |T_{+1}\rangle \langle T_{+1}| &= \frac{1}{4} \mathbb{I} + \frac{1}{2} (I_1^z + I_2^z + 2I_1^z I_2^z) \\ |T_0\rangle \langle T_0| &= \frac{1}{4} \mathbb{I} + \frac{1}{2} (2I_1^x I_2^x + 2I_1^y I_2^y - 2I_1^z I_2^z) \\ |T_{-1}\rangle \langle T_{-1}| &= \frac{1}{4} \mathbb{I} + \frac{1}{2} (-I_1^z - I_2^z + 2I_1^z I_2^z) \\ |S_0\rangle \langle S_0| &= \frac{1}{4} \mathbb{I} + \frac{1}{2} (-I_1^x I_2^x - 2I_1^y I_2^y - 2I_1^z I_2^z). \end{aligned} \quad (4.2)$$

Ahora, utilizando la ec. 3.29, definimos la matriz densidad del ortohidrógeno puro como la suma de las tres matrices del triplete, cada una con un peso $p^k = 1/3$, y la matriz densidad de parahidrógeno puro utilizando la ecuación restante con $p^k = 1$, es decir,

$$\begin{aligned} \rho^{oH_2} &= \frac{1}{3} \{|T_{+1}\rangle \langle T_{+1}| + |T_0\rangle \langle T_0| + |T_{-1}\rangle \langle T_{-1}|\} = \frac{1}{4} \mathbb{I} + \frac{1}{3} (I_1^x I_2^x + I_1^y I_2^y + I_1^z I_2^z), \\ \rho^{pH_2} &= |S_0\rangle \langle S_0| = \frac{1}{4} \mathbb{I} - (I_1^x I_2^x + I_1^y I_2^y + I_1^z I_2^z). \end{aligned} \quad (4.3)$$

Estas expresiones se pueden reescribir de manera mas compacta,

$$\begin{aligned}\rho^{oH_2} &= \frac{1}{4} \mathbb{I} + \frac{1}{3} (\mathbf{I}_1 \cdot \mathbf{I}_2), \\ \rho^{pH_2} &= \frac{1}{4} \mathbb{I} - (\mathbf{I}_1 \cdot \mathbf{I}_2).\end{aligned}\tag{4.4}$$

Finalmente, si definimos ρ^{H_2} como la matriz densidad de un ensamble de moléculas de hidrógeno con una cierta fracción de parahidrógeno N_{pH_2} se obtiene,

$$\rho^{H_2} = (1 - N_{pH_2})\rho^{oH_2} + N_{pH_2}\rho^{pH_2} = \frac{1}{4} \mathbb{I} - \xi \mathbf{I}_1 \cdot \mathbf{I}_2 - \frac{e}{4}(I_1^z + I_2^z),\tag{4.5}$$

con $\xi = (4N_{pH_2} - 1)/3$. La cantidad de pH_2 depende de la temperatura a la que el hidrógeno fue enriquecido, (ver Fig. 3.9). Vemos que a temperatura ambiente $N_{pH_2} = 1/4$ y por lo tanto $\xi = 0$, resultando en un operador densidad de equilibrio térmico para dos espines como el de la ec. 3.36. Por otro lado, a temperaturas bajas (típicamente menores a 20K), $N_{pH_2} \approx 1$ o $\xi = 1$, el operador densidad está dominado por el segundo término de la ec. 4.5. El cociente ξ/e dará una idea del grado de hiperpolarización del sistema (teóricamente del orden de 10^4) y por lo tanto de la intensidad de la señal obtenida. Es importante destacar que el incremento de la señal PHIP es nulo a temperatura ambiente, dicho de otro modo, siempre es necesario enriquecer el gas en pH_2 a algún valor superior al 25 % para obtener señal PHIP (ver Fig. 4.4). Para mayor simpleza del análisis, se fijará $\xi = 1$, cualquier valor intermedio solo será un factor multiplicativo en el espectro PHIP resultante. Sin perdida de generalidad, podemos decir entonces que el operador ρ^{H_2} , es proporcional al producto $\mathbf{I}_1 \cdot \mathbf{I}_2$, el cual es invariante antes rotaciones, es decir, pulsos de r.f. En consecuencia, como ya se mencionó antes, no existirá señal de RMN proveniente del pH_2 .

En cualquier experimento de PHIP, el gas es enfriado lo suficiente como para enriquecerlo en alguna proporción entre $1/2 \leq N_{pH_2} \leq 1$, por lo tanto, el tercer término de la ecuación anterior puede ser perfectamente descartado, ya que es del orden de $e \sim 10^{-5}$.

4.1.2.1. Dos espines acoplados

Para obtener una señal de RMN hiperpolarizada es necesario transferir este sistema magnéticamente equivalente A_2 a una molécula donde exista diferencia de desplazamiento químico entre los dos espines. Inmediatamente luego de esta transferencia ($t = 0$), el operador densidad térmico del producto se verá perturbado por la presencia del parahidrógeno, esto

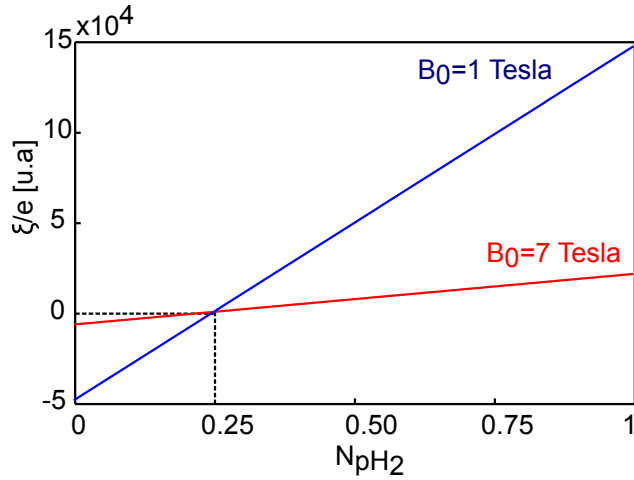


Figura 4.4: Cálculo del incremento de la señal PHIP en función del porcentaje de pH_2 para dos campos magnéticos diferentes. Se puede ver como la hiperpolarización es cero a temperatura ambiente ($N_{pH_2} = 1/4$) y aumenta a medida que el campo magnético es mas pequeño.

se puede escribir como,

$$\rho^{pr}(0) = \rho^{H_2} \otimes \rho^{ter}(0), \quad (4.6)$$

donde $\rho^{ter}(0)$ corresponde al operador de un ensamble de N espines $1/2$ (ver ec. 3.36) y \otimes denota el producto directo de las matrices asociados al operador densidad. El mismo se puede aproximar al operador identidad \mathbb{I} debido a que los valores e_k son muy pequeños. Así, $\rho^{pr}(0)$ resulta en,

$$\rho^{pr}(0) = \rho^{H_2} \otimes \frac{1}{2^N} \mathbb{I}. \quad (4.7)$$

Una vez comenzada la reacción, la matriz densidad, de una sola molécula de H_2 , evolucionará en un tiempo t de acuerdo a Liouville von-Neumann (ec. 3.33) de la forma,

$$\frac{d}{dt}\rho(t) = -i[\mathcal{H}, \rho] \implies \rho^{pr}(t) = e^{-i\mathcal{H}t} \rho^{pr}(0) e^{i\mathcal{H}t}, \quad (4.8)$$

donde \mathcal{H} es el Hamiltoniano total del sistema de la ec. 3.40.

Dado que el gas no se encuentra homogéneamente distribuido en el sistema, se producirán hidrogenaciones a diferentes tiempos. Consideremos todo el proceso de hidrogenación como un ensamble de moléculas que reaccionan a diferentes tiempos t_i , distribuidos a lo largo de un período de tiempo donde comienza la reacción $t_i = 0$, hasta donde se aplica el pulso de radio frecuencia $t_i = T$. Por lo tanto, cuando comienza la adquisición, existirá un ensamble de operadores ρ_i^{pr} que tienen evoluciones individuales por periodos de tiempo $T - t_i$. Si el tiempo en el cual transcurre la hidrogenación es mucho mayor que cualquier evolución interna del sistema (desplazamiento químico y acoplamiento- J), es decir, $T \gg 1/\omega_k, 1/J_{kl}$ para todo ω_k y J_{kl} , el operador densidad sobre todo en ensamble se puede obtener realizando

un promedio temporal de la forma,

$$\bar{\rho}^{pr}(T) = \frac{1}{T} \int_{t=0}^T \rho_i^{pr}(t) dt. \quad (4.9)$$

Como consecuencia de la reacción y la posterior evolución de los espines dentro de la molécula, la hiperpolarización se transfiere o esparce del parahidrógeno a los otros núcleos, ya sea a los otros hidrógenos como a los carbonos, dependiendo solamente del \mathcal{H} molecular. Es importante aclarar que se modela la reacción química una vez se han incorporado la molécula de hidrógeno al educto, es decir, para nuestros fines teóricos la reacción comienza en el momento que se forma el producto y no antes. Esto, que si bien puede parecer una restricción en el modelado, no afectará en lo mas mínimo a la hora de comparar los espectros obtenidos numéricamente con los experimentales.

Supongamos que el sistema en el cual se deposita la molécula de pH_2 es un sistema AA' aislado del resto de la molécula producto. Entonces \mathcal{H} será un Hamiltoniano de dos espines acoplados como el de la ec. 3.11. De esta forma, la evolución del operador densidad para una sola molécula ρ_i^{pr} con la ec. 4.8, resultará en [34],

$$\rho_i^{pr}(t_i) = \frac{1}{4} \mathbb{I} - I_1^z I_2^z - a(t_i) ZQ_x - b(t_i) ZQ_y + \frac{1}{2} c(t_i) (I_1^z - I_2^z), \quad (4.10)$$

donde $ZQ_x = (I_1^x I_2^x + I_1^y I_2^y)$ y $ZQ_z = (I_1^y I_2^x - I_1^x I_2^y)$ son los operadores de orden cero, es decir, correspondientes a coherencias cuánticas de orden cero. Los coeficientes dependientes del tiempo $a(t_i)$, $b(t_i)$ y $c(t_i)$ son proporcionales a los valores de expectación $\langle ZQ_x \rangle$, $\langle ZQ_y \rangle$ y $\langle (I_1^z - I_2^z) \rangle$ respectivamente. Los mismos provienen del sistema de ecuaciones diferenciales de primer orden,

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} a(t) &= 2\pi \Delta\nu \, b(t) \\ \frac{d}{dt} b(t) &= -2\pi \Delta\nu \, a(t) - 2\pi J_{12} c(t) \\ \frac{d}{dt} c(t) &= 2\pi J_{12} \, b(t), \end{aligned} \quad (4.11)$$

con solución:

$$\begin{aligned} a(t) &= \frac{1}{\zeta^2 + 1} (1 + \zeta^2 \cos(kt)) \\ b(t) &= \frac{-\zeta}{\sqrt{\zeta^2 + 1}} \sin(kt) \\ c(t) &= \frac{\zeta}{2(\zeta^2 + 1)} (1 - \cos(kt)), \end{aligned} \quad (4.12)$$

donde $k = 2\pi\sqrt{(\Delta\nu)^2 + J_{12}^2}$ y $\zeta = \frac{\Delta\nu}{J_{12}}$. Realizando un promedio sobre todo el ensamble de operadores $\rho_i^{pr}(t_i)$ que se generan en toda la muestra, para un tiempo de reacción $T \gg 1/k$, el operador densidad promedio (ec. 4.9) queda,

$$\bar{\rho}^{pr} = -I_1^z I_2^z + \frac{1}{\zeta^2 + 1} ZQ_x + \frac{\zeta}{2(\zeta^2 + 1)} (I_1^z - I_2^z), \quad (4.13)$$

donde se obvió el término correspondiente a la identidad $\frac{1}{4} \mathbb{I}$, ya que no aporta a la dinámica del sistema y no producirá magnetización detectable. Debido a que la técnica desarrollada en esta tesis para obtener espectros PHIP libres de señales térmicas de alta resolución, fundamentalmente sirve para el caso en el que la hidrogenación se realiza dentro del imán, consideremos en detalle la situación PASADENA para diferentes sistemas de espines.

Por supuesto, si el sistema de espines en el cual se deposita la molécula de pH_2 es A_2 , ($\Delta\nu = 0 \Rightarrow \zeta = 0$), se recupera la operador densidad del parahidrógeno que es proporcional al producto $\mathbf{I}_1 \cdot \mathbf{I}_2 = -(I_1^x I_2^x + I_1^y I_2^y + I_1^z I_2^z)$ (ec. 4.5), y por lo tanto no existirá señal PHIP, ya que no se rompió la simetría del pH_2 .

Si el sistema de espines luego de la hidrogenación es AX , entonces $\zeta \gg 1$ y por lo tanto el operador densidad luego de la reacción resulta en,

$$\bar{\rho}_{AX}^{PASA} = -I_1^z I_2^z. \quad (4.14)$$

Este resultado es posible obtenerlo utilizando el análisis anterior de los niveles de energía, ya que si se poblaron los niveles $|\alpha\beta\rangle$ y $|\beta\alpha\rangle$ luego de la reacción, se puede construir el operador densidad como,

$$|\alpha\beta\rangle \langle\alpha\beta| + |\beta\alpha\rangle \langle\beta\alpha| = -I_1^z I_2^z. \quad (4.15)$$

Volviendo a la ecuación anterior, si se aplica un pulso de r.f. de ángulo ϕ y fase y para obtener una señal de RMN, $\bar{\rho}_{AX}^{PASA}$ sufrirá una rotación resultando en,

$$\bar{\rho}_\phi^{PASA} = \cos(\phi) \sin(\phi) \underbrace{(I_1^z I_2^x + I_1^x I_2^z)}_{\text{Antifase}} + \underbrace{I_1^z I_2^z \cos^2(\phi) + I_1^x I_2^x \sin^2(\phi)}_{\text{Coherencias cuánticas dobles}}. \quad (4.16)$$

Durante la adquisición, los términos correspondientes a las coherencias cuánticas dobles no evolucionarán en magnetización detectable y solo se detectará los términos en antifase del operador densidad. Los términos en antifase poseen magnitudes comparables, lo que resulta en una cancelación parcial de los picos en el espectro de RMN en presencia de una inhomogeneidad de campo magnético (ver Fig. 3.3). Es importante destacar que para obtener

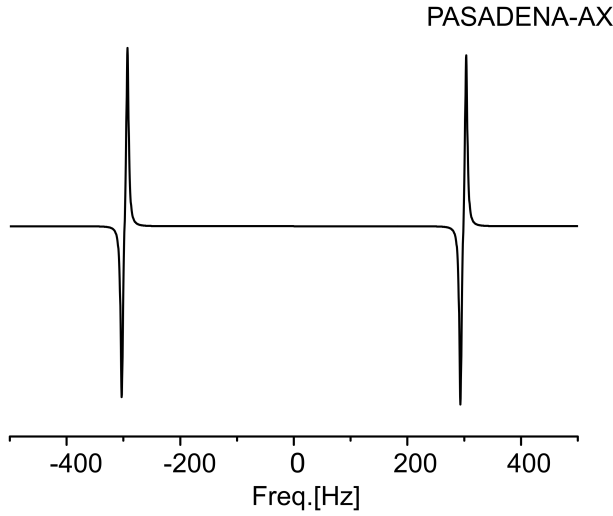


Figura 4.5: Espectro PASADENA simulado en un sistema de dos espines débilmente acoplados con $\Delta\nu = 2$ ppm y $J_{12} = 10$ Hz en un campo $B_0 = 7$ T.

una FID con máxima señal es necesario utilizar un pulso de ángulo $\phi = \pi/4$, lo cual difiere considerablemente de un experimento usual de RMN con señales térmicas, donde en ángulo de máxima señal es $\pi/2$. Finalmente, luego del pulso de r.f., $\bar{\rho}_\phi^{PASA}$ evolucionará nuevamente con \mathcal{H}_{AX} produciendo los términos observables,

$$\bar{\rho}_\phi^{PASA} = \frac{1}{2} \sin(\pi J_{12}t) (I_1^y + I_2^y), \quad (4.17)$$

los cuales producirán el espectro de RMN de la Fig. 4.5.

Es posible pensar a la reacción en términos de los valores de expectación de cada operador bajo la evolución con el Hamiltoniano \mathcal{H}_{AX} . El valor de expectación del operador ZQ_x (originalmente presente en el operador inicial del pH_2), oscila y produce el término ZQ_y , el cual también oscila con un valor de expectación medio igual a cero. Si el tiempo de reacción es lo suficientemente largo ($T \gg 1/k$), ambos términos promedian a cero y solo queda el término restante proporcional a $I_1^z I_1^z$, que no evoluciona y se mantiene constante durante toda la reacción. En la Fig. 4.6 se muestran los diferentes valores de expectación de los operadores resultantes luego de una hidrogenación simulada para dos espines acoplados en un campo magnético $B_0 = 7$ T con $\Delta\nu = 2$ ppm y $J_{12} = 10$ Hz.

Finalmente, si el sistema de espines que se forma luego de la reacción en la molécula producto es un sistema AB , la pequeña diferencia en desplazamiento químico entre los dos espines reduce la frecuencia de oscilación de los valores de expectación $\langle ZQ_x \rangle$ y $\langle ZQ_y \rangle$ y por lo tanto, el tiempo en el cual el sistema alcanza un estado estacionario es mayor (ver Fig. 4.7). Esto genera nuevos términos en el operador densidad ya que los valores de expectación $\langle I_1^z \rangle$ y $\langle I_2^z \rangle$ no se anulan. En la Fig. 4.7 se simuló esta situación para un sistema AB en

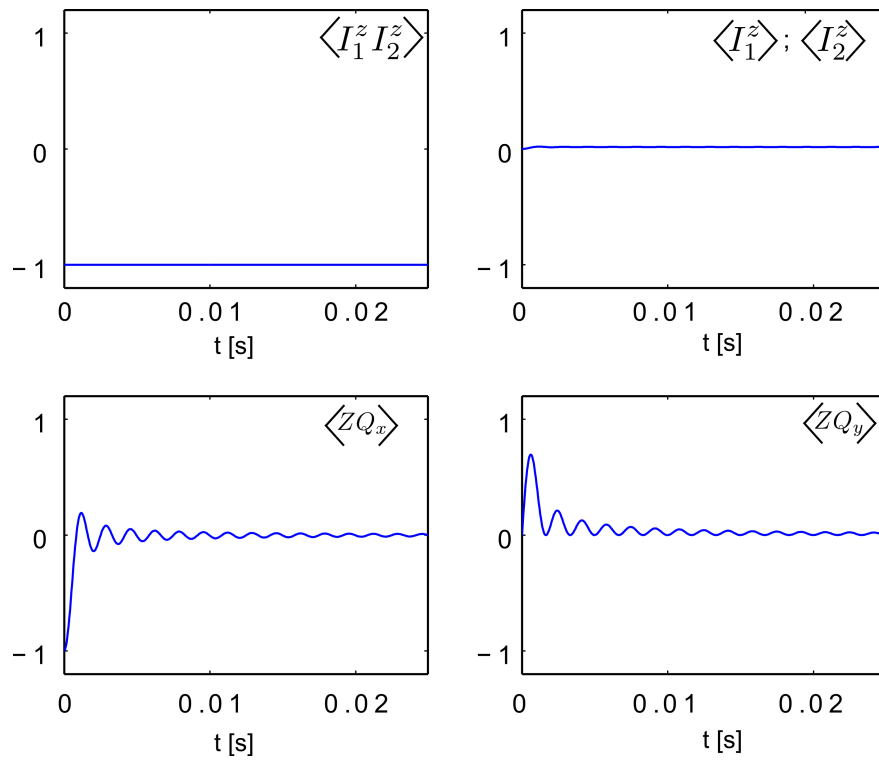


Figura 4.6: Valores de expectación para los diferentes operadores durante la reacción química en un sistema AX . Para tiempos de reacción lo suficientemente largos, los valores de expectación $\langle ZQ_x \rangle$ y $\langle ZQ_y \rangle$ se desvanecen. Tanto $\langle I_1^z \rangle$ como $\langle I_2^z \rangle$ son cero durante toda la reacción. Finalmente, el único valor de expectación que sobrevive es $\langle I_1^z I_2^z \rangle$, el cual se mantiene constante en -1 y aportará la señal PHIP resultante.

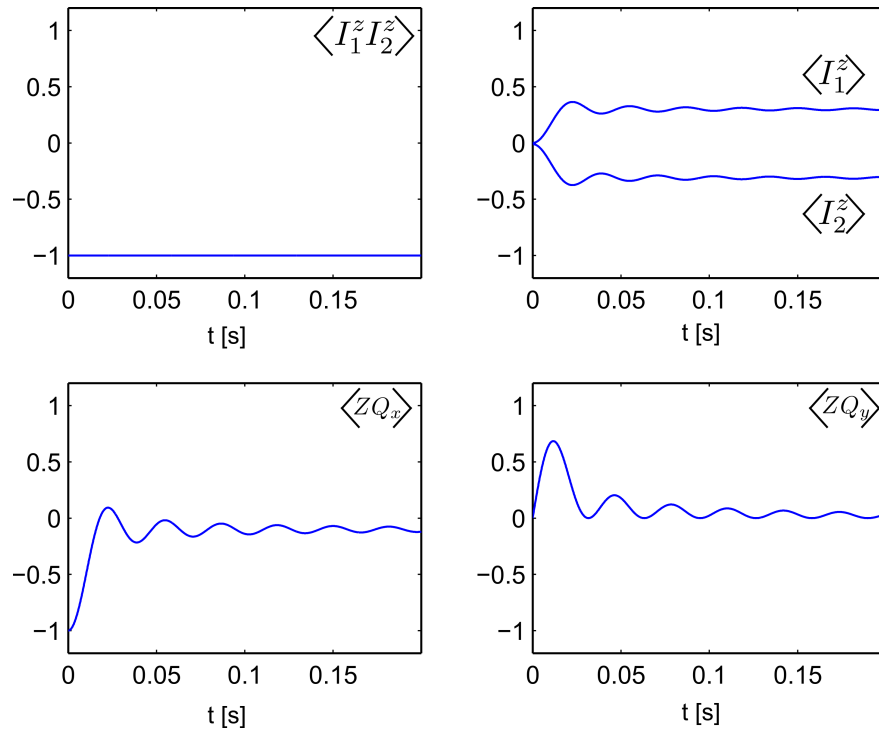


Figura 4.7: Valores de expectación para los diferentes operadores durante la reacción química en un sistema AB .

un campo $B_0 = 7$ T con $\Delta\nu = 0.1$ ppm y $J_{12} = 10$ Hz, lo que resultó en el operador $\bar{\rho}_{AB}^{PASA} = -I_1^z I_2^z + 0.3(I_1^z - I_2^z)$. El espectro resultante se muestra en la Fig. 4.8. Se puede ver como la forma del espectro cambia debido al solapamiento de ambos picos en antifase y al término adicional en el operador densidad $(I_1^z - I_2^z)$.

Para el caso de que la hidrogenación ocurra fuera del imán, es decir, condición ALTADENA, es posible obtener el operador aproximado que se obtiene una vez se incorpora el pH_2 a la molécula. Mas allá de que el campo magnético en el cual ocurra la reacción puede ser mas o menos fijo (campo terrestre por ejemplo), es necesario transportar la muestra dentro del espectrómetro, y por lo tanto el término Zeeman del Hamiltoniano del sistema irá variando. Así, el operador densidad resultante dependerá de la velocidad y el camino que se eligió para transportar la muestra dentro del imán, es decir en que campo magnético estuvo y cuando tiempo. En general se considera que este transporte se realiza de forma adiabática, es decir lo suficientemente lento comparado con la dinámica molecular interna.

Consideremos el caso mas simple, en el cual el sistema que se forma luego de la reacción es un sistema AX aislado. Utilizando la ec. 4.13, se puede analizar la variación del campo

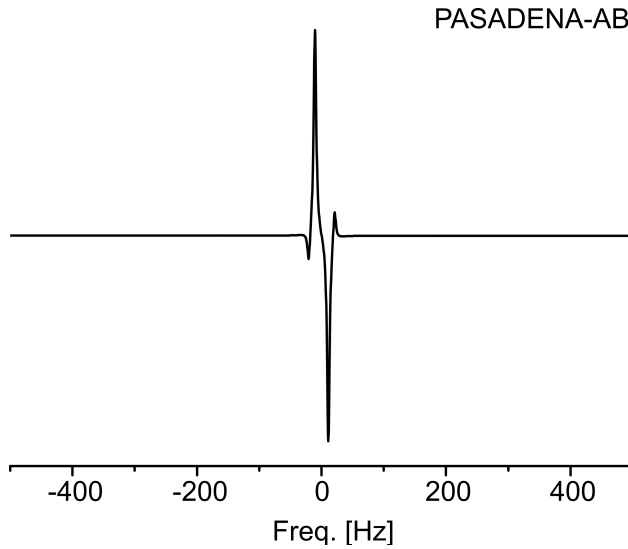


Figura 4.8: Espectro PASADENA simulado en un sistema de dos espines fuertemente acoplados con $\Delta\nu = 0.1$ ppm y $J_{12} = 10$ Hz en un campo $B_0 = 7$ T.

magnético externo con el cambio en el parámetro ζ . A campos pequeños (del orden de mT), el operador densidad del sistema de dos espines será una combinación de los operadores de espín $I_1^z I_2^z$, ZQ_x y $\frac{1}{2}(I_1^z - I_2^z)$. A medida que la muestra se acerca a la zona de medición, el campo va aumentando hasta llegar a su máximo valor $B_0 \sim 7$ T. Esto produce un desvanecimientos del término ZQ_x , de la misma forma en que se explico para PASADENA. Finalmente, el operador densidad resultante para el ensamble de moléculas será,

$$\bar{\rho}_{AX}^{ALTA} = -I_1^z I_2^z \pm \frac{1}{2}(I_1^z - I_2^z), \quad (4.18)$$

dado que ζ puede ser positivo o negativo. Nuevamente, este resultado puede obtenerse si consideramos que, o bien luego de la reacción se pobló el nivel $|\alpha\beta\rangle$ o el nivel $|\beta\alpha\rangle$ de la Fig. 4.3. Por lo tanto, el operador densidad en cada caso será,

$$\begin{aligned} |\alpha\beta\rangle \langle\alpha\beta| &= -I_1^z I_2^z + \frac{1}{2}(I_1^z - I_2^z) \\ o \\ |\beta\alpha\rangle \langle\beta\alpha| &= -I_1^z I_2^z - \frac{1}{2}(I_1^z - I_2^z). \end{aligned} \quad (4.19)$$

Aplicando un pulso de r.f para realizar un espectro de RMN, el operador resulta en,

$$\bar{\rho}_\phi^{ALTA} = \cos(\phi) \underbrace{\sin(\phi) (I_1^z I_2^x + I_1^x I_2^z)}_{\text{Antifase}} \pm \frac{1}{2} \underbrace{\sin(\phi) \frac{1}{2} (I_1^z - I_2^z)}_{\text{Enfase}} + \underbrace{I_1^z I_2^z \cos^2(\phi) + 2I_1^x I_2^x \sin^2(\phi)}_{\text{Coherencias cunticas dobles}}, \quad (4.20)$$

el cual es similar el operador obtenido para PASADENA (ec. 4.16), pero con un término adicional en fase de la forma $(I_1^z - I_2^z)$. Calculando nuevamente la evolución de este operador

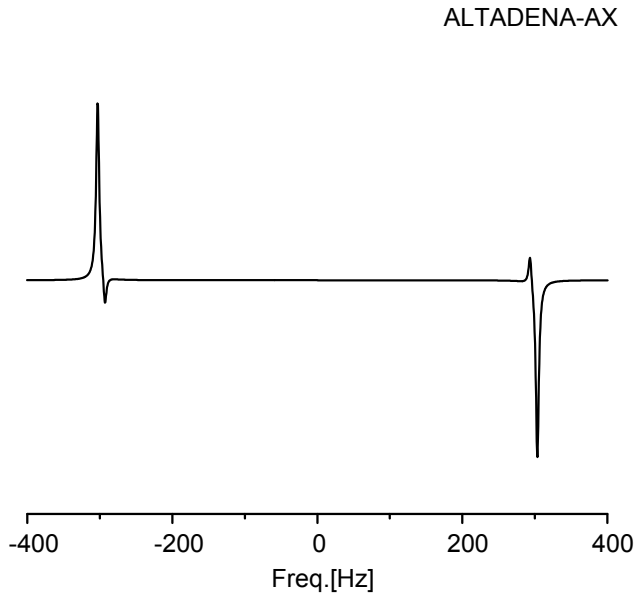


Figura 4.9: Espectro ALTADENA simulado en un sistema de dos espines débilmente acoplados con $\Delta\nu = 2$ ppm y $J_{12} = 10$ Hz en un campo $B_0 = 7$ T.

con el Hamiltoniano 3.11 se obtendrá un espectro como el de la Fig. 4.9, donde se considera el transporte de la muestra de forma adiabática y, al igual que en el caso PASADENA, el máximo de la señal se obtiene cuando $\phi = \pi/4$.

4.1.2.2. PASADENA con tres o mas espines acoplados

Es importante aclarar que los sistemas AA' aislados en general no existen, y siempre que haya otro espín en la molécula producto (ya sea ^1H u otro núcleo), parte de la polarización se transferirá a los mismos. Este hecho puede ser o no útil, dependiendo del experimento que se desee realizar, por ejemplo si se desea obtener señal PHIP de ^{13}C , es posible realizar secuencias de pulsos para realzar esta transferencia de polarización de los protones hacia los carbonos en la molécula [18,35]. Esta transferencia de polarización existirá en mayor medida si la reacción ocurre a campo bajo (ALTADENA) y/o se realiza la medición a campo bajo [36] (sección 5.3.3), debido al fuerte acoplamiento de los espines mientras ocurre la hidrogenación. En análisis pertinente no se realizará en esta tesis, pero se puede encontrar información detallada del proceso en un gran número de publicaciones [20,37–39], por mencionar algunas.

Para el caso PASADENA a campo alto, la transferencia hacia otros espines ocurre y en general, erróneamente, se desprecia. El análisis en estos casos es el mismo que el que se realizó anteriormente, pero es necesario considerar mas espines acoplados, es decir, el Hamiltoniano del sistema será \mathcal{H} (ec. 3.40). Un análisis analítico, como el desarrollado para un sistema de dos espines, es extremadamente engorroso si el número de espines es mayor

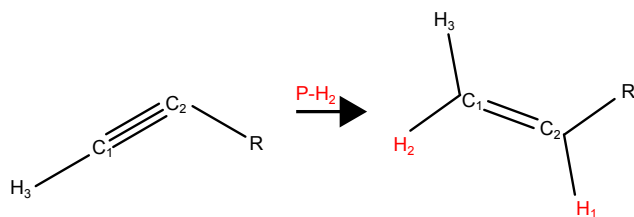


Figura 4.10: Esquema de hidrogenación de una molécula orgánica con triple enlace donde se forma un sistema de tres espines acoplados. Se indican de color rojo los hidrógenos que provienen del pH_2 .

a tres. En principio, es posible resolver numéricamente la evolución de cualquier sistema de espines utilizando las ecuaciones 3.33, 3.40 y 4.9, dependiendo fundamentalmente del poder de cálculo computacional que se disponga, ya que la dimensión de las matrices que representan las evoluciones y Hamiltonianos aumenta como $2^N \times 2^N$, siendo N el número de espines. En esta tesis se trabajó con sistema entre dos y ocho espines acoplados, dependiendo del experimento que se realice. En general se utilizó la molécula modelo 1 – *hexyne* (ver sec. 4.2), la cual posee doce espines una vez realizada la hidrogenación, pero como se verá en las secciones siguientes, una buena aproximación de la dinámica de espín se puede realizar utilizando un sistema de cinco espines.

Como ejemplo de transferencia de polarización en PASADENA, consideremos el caso de un sistema de 3 espines, dos de los cuales provienen originalmente del pH_2 y el tercero recibe parte de la polarización una vez realizada la reacción. Este tipo de sistemas es muy usual en PHIP y se forma cuando se incorpora el pH_2 en un triple enlace que se encuentra entre el carbono 1 y 2 de la molécula (ver Fig. 4.10). Supongamos que la molécula luego de reaccionar posee tres sitios diferentes de desplazamiento químico $\nu_1 = 5.8$ ppm, $\nu_2 = 4.92$ ppm y $\nu_3 = 4.96$ ppm y están acoplados con las constantes $J_{12} = 10.2$ Hz, $J_{13} = 17$ Hz y $J_{23} = 2.2$ Hz respectivamente. La elección de estos parámetros no es arbitraria, y corresponde a los valores reales de la molécula de ácido propiólico luego de reaccionar con una molécula de pH_2 y convertirse en ácido acrílico [40].

Si la reacción ocurre en presencia de un campo $B_0 = 7$ Tesla, parte de la polarización se transferirá al espín 3 (un 2% aproximadamente), lo que resultará en el espectro de la Fig. 4.11. La cantidad de polarización que se trasfiere a otros espines en la molécula producto, dependerá de los parámetros de acoples en la molécula y el campo en el que se realiza el experimento. Como se mencionó anteriormente, un sistema aislado AX no existe, y si se desea realizar una simulación lo mas cercana posible al sistema real (ya sea hidrogenaciones a campo bajo sec. 5.3.3 o alto sec. 5.3.2), es necesario considerar siempre la evolución del

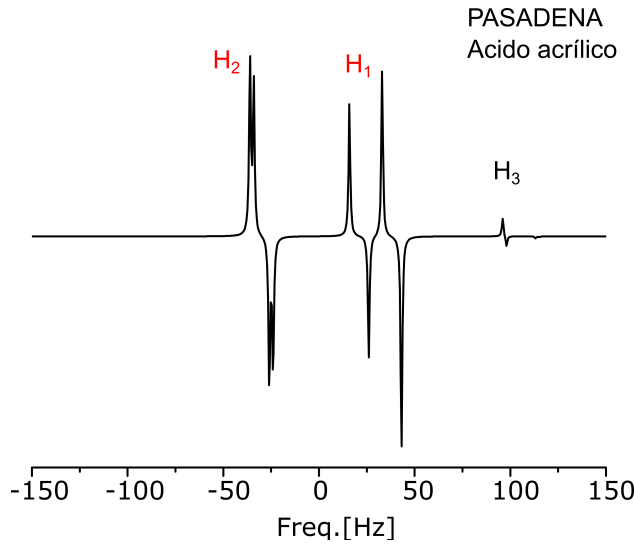


Figura 4.11: Espectro PASADENA simulado a campo alto de ácido propiónico luego de reaccionar. Se observa que parte de la polarización proveniente del pH_2 (H_1 y H_2) se transfiere al tercer espín H_3 .

mayor número de espines posibles dentro de la molécula producto.

4.2. Experimental

En esta sección se esbozarán los procesos experimentales en PHIP que se desarrollaron en esta tesis. Como se mencionó anteriormente, la mayor parte de reacciones químicas se realizaron dentro del espectrómetro. Para ello se construyeron diferentes arreglos experimentales para poder incorporar el pH_2 dentro de la muestra, una vez dispuesta en la bobina de detección dentro del imán.

4.2.1. Preparación del pH_2

Todo experimento de PHIP comienza siempre con la preparación del pH_2 . Para ello, la Fig. 3.9 da una idea de como realizar este proceso. El método mas sencillo para enriquecer el H_2 en su estado pH_2 es enfriar el gas a una dada temperatura en presencia de impurezas paramagnéticas [41], las cuales fuerzan transiciones entre los estados orto y para del hidrógeno. Una vez alcanzado el equilibrio térmico, se retira el gas de las impurezas y se almacena para su posterior uso a temperatura ambiente. En este punto, la no existencia de transiciones entre los estados para/orto se convierte en una ventaja, ya que si el gas se almacena en un lugar lo suficientemente limpio de impurezas paramagnéticas, no volverá a su estado natural a temperatura ambiente, es decir 25 % de pH_2 y 75 % de oH_2 , y se mantendrá la proporción de pH_2 correspondiente a la temperatura a la cual se enfrió el gas en un principio.

En teoría, el gas debería permanecer sin alterar su estado sin importar el tiempo que esta almacenado. En la práctica, incluso en las mejores condiciones experimentales, el gas enriquecido mantiene su proporción un par de semanas, ya es imposible almacenar el gas en un lugar totalmente libre de impurezas, ya que la mera presencia de las paredes del cilindro de aluminio que se utiliza para almacenarlo o alguna molécula de O_2 ayuda a generar nuevamente transiciones triplete/single. Mas aún, las mismas moléculas del gas afectan a la proporción de gas enriquecido, ya que la imposibilidad de generar transiciones existe si se considera una sola molécula. De esta forma, se tomó especial recaudo a la hora de construir el arreglo experimental, en el cual realizó vació de todas sus componentes así como también se agregaron filtros para evitar el traspaso de las impurezas dentro del cilindro contenedor de pH_2 . En general se enriqueció el gas el mismo día, o un día antes, en el que se realizó el experimento de PHIP.

En la Fig. 4.12, se muestra en esquema del arreglo experimental que se utilizó para generar 50 % de gas enriquecido en pH_2 . El gas a temperatura ambiente en **(A)** ingresa por **(1)** en un tubo lleno de impurezas paramagnéticas (mezcla de carbón activado y óxido de hierro) el cual se encuentra embebido en nitrógeno líquido (77 K). El equilibrio térmico se alcanza en cuestión de minutos, pero para asegurar la conversión total del gas, se esperó 30 min por carga de gas ingresado. Por último, se abre la válvula **(2)**, la cual posee un filtro de lana de vidrio y tela para evitar que el catalizador se filtre por la linea, y se equilibren las presiones con el cilindro **(B)**. Este proceso de repitió entre cuatro y cinco veces hasta obtener la presión deseada de pH_2 (4 Bar aproximadamente).

Para los experimentos realizados con pH_2 al 90 % se utilizó un conversor de parahidrógeno comercial de marca Bruker (ver Fig. 4.13), el cual se encuentra en el Instituto Max Planck para la Investigación de Polímeros en la ciudad alemana de Mainz (MPIP-Mainz). Este aparato trabaja a una temperatura de conversión entre 36 K y 40 K, permitiendo tener una presión máxima de salida de 10 Bares y un flujo constante de 0.2 l/min.

4.2.2. Hidrogenación

Una vez obtenido el gas H_2 enriquecido en su estado *para*, es necesario transferirlo a una molécula. En esta sección se explican los materiales y métodos que se utilizaron para realizar la hidrogenación con pH_2 .

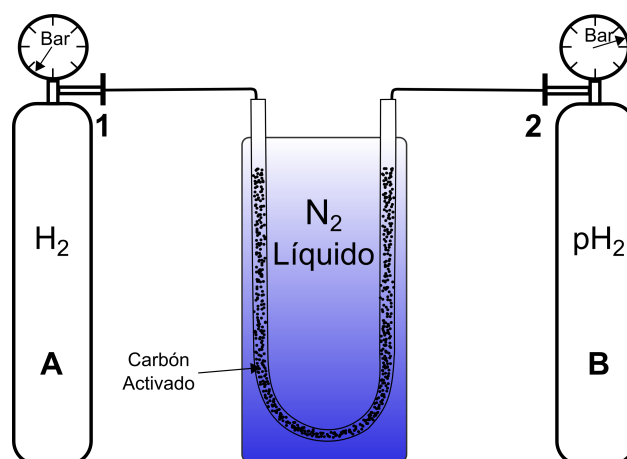


Figura 4.12: Esquema del arreglo experimental utilizado para enriquecer H_2 en un 50 % de estado pH_2 . Descripción en el texto. Para mayor información consultar el Apéndice.



Figura 4.13: Generador de parahidrógeno comercial Bruker, único en el mercado.

4.2.2.1. Catalizador

Como se dijo anteriormente, es necesario romper la simetría del sistema de espines en la molécula de H_2 para poder observar señal PHIP. La forma usual de realizar esto, es mediante una reacción química de hidrogenación de una molécula no-saturada. En general, cualquier molécula con un doble o triple enlace entre carbonos acepta la incorporación de hidrógeno utilizando algún catalizador, pero para obtener una señal PHIP es necesario que dos protones provenientes de la misma molécula de H_2 se incorporen a la molécula producto, proceso que se genera en mayor medida cuando la hidrogenación es homogénea, es decir, tanto el catalizador como la molécula a reaccionar se encuentran en la misma fase, generalmente en fase líquida. Además, este proceso tiene que ser lo suficientemente rápido (del orden de segundos), como para realizar experimentos antes que el sistema vuelva al equilibrio térmico. Lamentablemente, no existen en el mercado muchos catalizadores que cumplan estas dos condiciones, pero se ha encontrado que los catalizadores llamados Complejos de Wilkinson [42] resultan ideales para realizar experimentos PHIP [13]. En particular, los que poseen centros metálicos con Iridio, Paladio o Rodio, han demostrado tener un buen desempeño en reacciones de hidrogenación homogénea. El problema fundamental de este tipo de compuestos, es su alto grado de toxicidad y baja, o nula, solubilidad en agua, por lo que en general se utiliza acetona como solvente, lo que impide el uso directo en sistemas biológicos o en aplicaciones médicas. Si bien se han realizado grandes avances para separar el catalizador de la molécula reaccionada y/o utilizar catalizadores solubles en agua [43, 44], todavía sigue siendo uno de los grandes desafíos de PHIP. Esto ha llevado a utilizar catalizadores para reacciones de hidrogenación heterogéneas, donde la molécula producto se encuentra en estado gaseoso y el catalizador en estado sólido [45, 46]. De esta forma, se elimina el solvente y se filtra de manera simple el catalizador, pero la señal PHIP obtenida es considerablemente menor si se compara con una hidrogenación homogénea, ya que la probabilidad de que la adición del pH_2 sea de a pares es muy baja. Una recopilación detallada sobre este tipo de reacciones se puede encontrar en el trabajo de Zhivonitko et.al. [47]. En la sección 5.3.4, se analiza este proceso utilizando gas propano hiperpolarizado de manera teórica.

En esta tesis, se utilizó un catalizador adquirido comercialmente a base de Rodio (ver Fig. 4.14). Este compuesto es el más común utilizado en PHIP, ya que produce la hidrogenación de a pares en cuestión de segundos. Una vez disuelto en acetona, (en esta tesis se utilizó

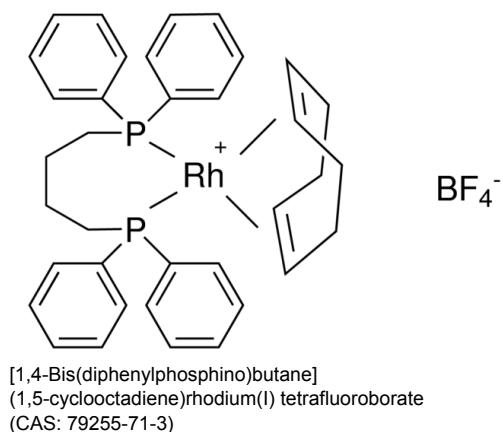


Figura 4.14: Catalizador soluble en acetona utilizado en los experimentos PHIP en fase líquida.

acetona deuterada) es incorporado al educto para su posterior hidrogenación. Este proceso debe realizarse en una cámara de atmósfera controlada en presencia de una gas inerte (N_2 o Ar) debido a que el catalizador es propenso a oxidarse y esto afecta directamente su desempeño en la reacción química.

4.2.2.2. Molécula producto

Se eligió el hexyne (ver Fig. 4.15) como molécula modelo para el desarrollo de técnicas de medición debido a su alta reactividad y su bajo costo. Se utilizó en sus tres variantes 1/2/3-hexyne, siendo la primera la que presenta una intensa señal PHIP (Fig. 4.18). El 1-hexyne es un líquido tóxico inflamable con punto de ebullición entre 71 °C y 72 °C comercialmente disponible. El sistema de tres espines formados luego de la reacción química muestra un tiempo de relajación espín red T_1 de alrededor de 30 s, el doble del tiempo de los otros protones de la molécula.

Para demostrar la robustez y versatilidad de la técnica desarrollada en este trabajo, se realizaron experimentos en PHIP en otras moléculas, donde la reactividad es mas baja que en el 1-hexyne, y que presentan utilidad en la medicina y la química. Se utilizaron dos tipos de moléculas biocompatibles (ver Fig. 4.16), las cuales fueron sintetizadas en el MPIP-Mainz, y pueden ser utilizadas como sustancias de contraste para imágenes por RMN en sistemas biológicos. La molécula formada luego de la reacción en la Fig. 4.16. **(B)** es conocida como Fallypride, la cual se utiliza normalmente como sustancia de contraste en imágenes PET (Tomografía por Emisión de Positrones) [48]. En este caso, se dopó con Carbono 13 para realizar espectros PHIP en ese espín debido a la transferencia de polarización del pH_2

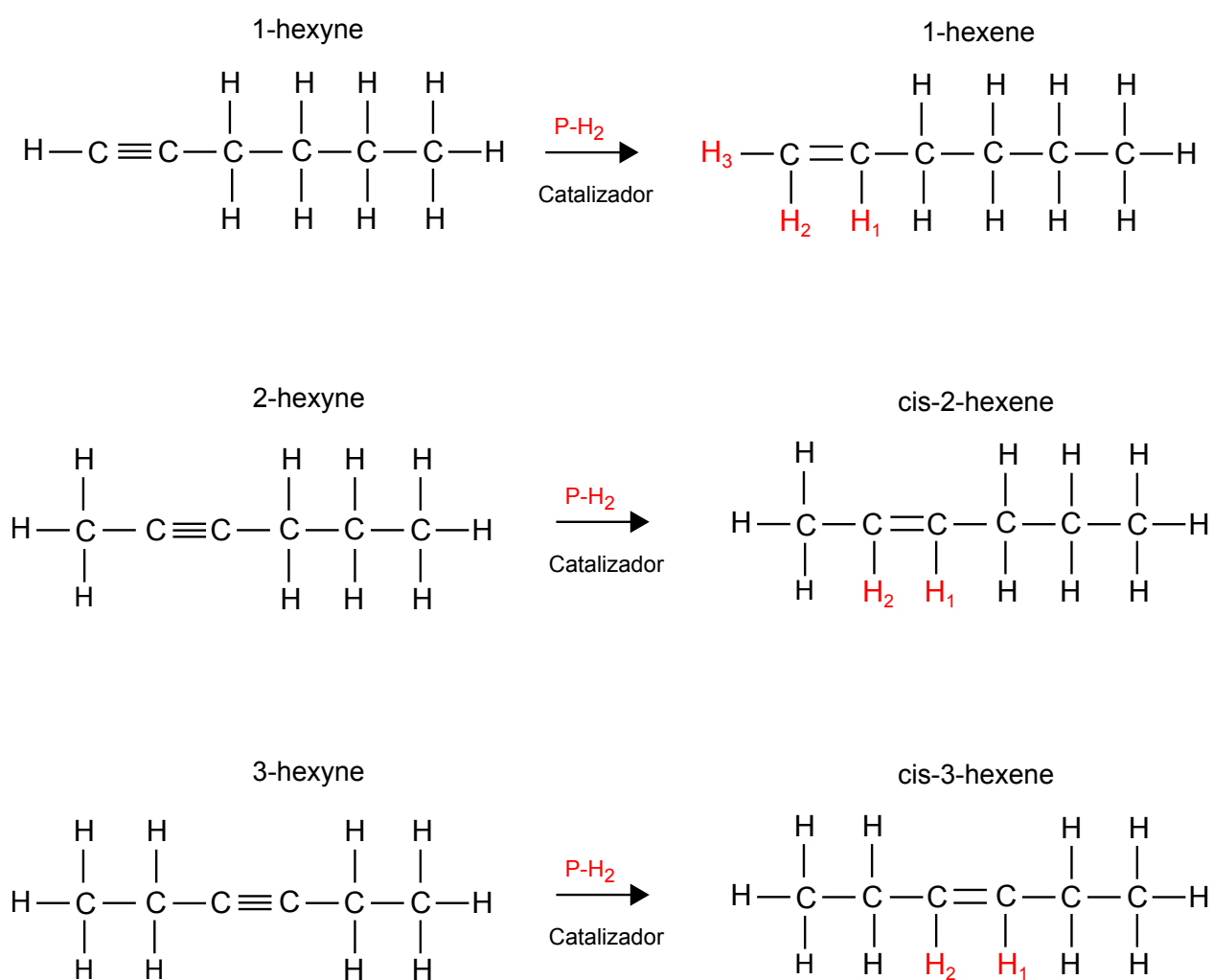


Figura 4.15: Esquema de la hidrogenación con pH_2 de hexyne a hexene.

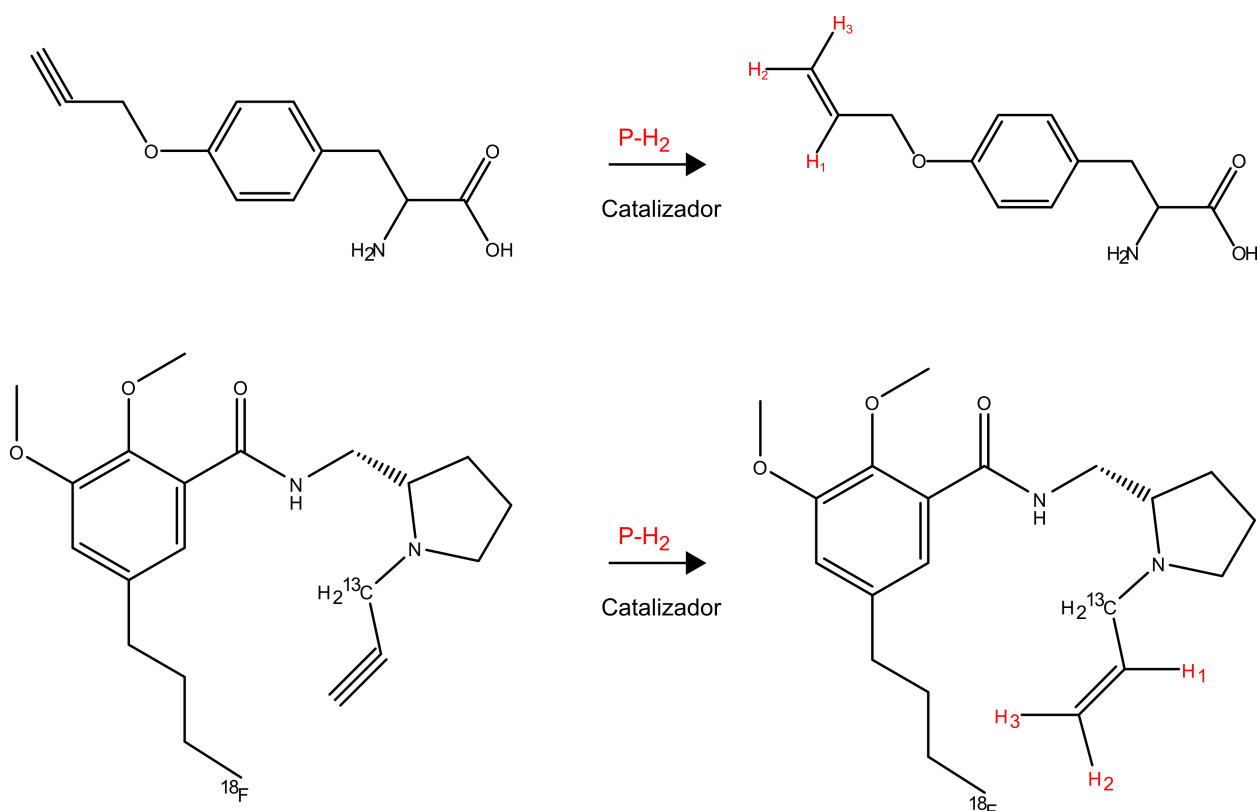


Figura 4.16: Esquema de la hidrogenación con pH_2 de diferentes biomoléculas. Para mayor simplicidad, nombraremos como *BioMol1* a la molécula luego de la reacción en (A) y *BioMol2* a la molécula en (B).

incorporado luego de la reacción.

4.2.2.3. Experimento PHIP

Para un experimento de PHIP es necesario realizar los siguientes pasos:

- 1 *Preparación del parahidrógeno:* Ver sec. 4.2.1.
- 2 *Preparación de la muestra:* En presencia de una atmósfera controlada de N_2 o Ar , se colocan 0.010 gr de Catalizador (Fig. 4.14) y se disuelven en 2.6 gr de Acetona- d_6 para luego agregar 0.3 gr el educto (ver sec. 4.2.2.2 y Apéndice A) que se desee reaccionar. Finalmente, se separa el líquido en tubos de RMN para su posterior uso en los diferentes arreglos experimentales de la Fig. 4.17. Es importante aclarar que estas cantidades pueden variar dependiendo de la molécula que se utilice.
- 3 *Incorporación del pH_2 :* Una vez emplazada la muestra en de la zona de medición dentro

del espectrómetro (se utilizó una sonda de medición estándar de líquidos para tubos de RMN de 10 mm marca Bruker), se puede comenzar con la incorporación del gas enriquecido a la muestra. En esta tesis se realizó de dos maneras diferentes, burbujeando unos segundos (entre 15 seg y 40 seg) utilizando el arreglo experimental de la Fig. 4.17 (A), o bien de manera continua (Fig. 4.17 (B)) .

4 Medición: Se aplica la secuencia de pulsos correspondiente y se adquiere la señal (Fig. 4.18). Para el caso de la Fig. 4.17 (A), no es necesario detener la incorporación del gas para realizar la medición, ya que no hay burbujas dentro de la muestra.

En la Fig.4.17 se muestran los arreglos experimentales que se utilizaron para realizar las reacciones químicas de las diferentes moléculas. En el caso (B), el sistema permite reaccionar lenta y controladamente al educto, evitando la formación de burbujas, ya que el gas es capaz de percolar las paredes de los tubos de teflon de 360 μm y incorporarse al líquido. Además es posible controlar la temperatura de reacción (utilizando el sistema de control de temperatura provisto por el cabezal del espectrómetro) y aumentarla a niveles mayores (entre 65 °C y 75 °C) que el punto de ebullición del educto y de la acetona a presión atmosférica, ya que se puede aumentar la presión dentro del tubo de RMN incorporando gas N_2 a 6 Bares. Esto es sumamente útil para moléculas poco reactivas, ya que al aumentar la temperatura aumenta la cinética de la reacción, es decir, aumenta la probabilidad de que cada molécula de pH_2 y de educto se encuentren con los centros activos del catalizador para luego formar la molécula producto.

Los espectros obtenidos en la Fig. 4.18 fueron medidos en las mismas condiciones experimentales de temperatura, presión (ya sea de pH_2 como de N_2) y concentración de los compuestos utilizados. Esto permite una comparación relativa entre las máximas intensidades PHIP obtenidas en función del cambio de entorno químico del pH_2 una vez incorporado al educto, es decir el cambio en el parámetro ζ_{12} . Se puede ver como la señal PHIP obtenida en 1-hexene es considerablemente mas intensa que en cis-2/3-hexene, debido a que la ruptura de la simetría del pH_2 es mucho mayor, es decir, que el sistema presenta características cercanas a un sistema AX ($\zeta_{12} \gg 1$). En la tabla 4.1 se muestran los valores de las diferentes constantes ζ_{12} para H_1 y H_2 en las tres moléculas reaccionadas y el valor máximo de la señal PHIP obtenida integrando los picos que se encuentran en la zona entre 4 ppm y 5.5 ppm.

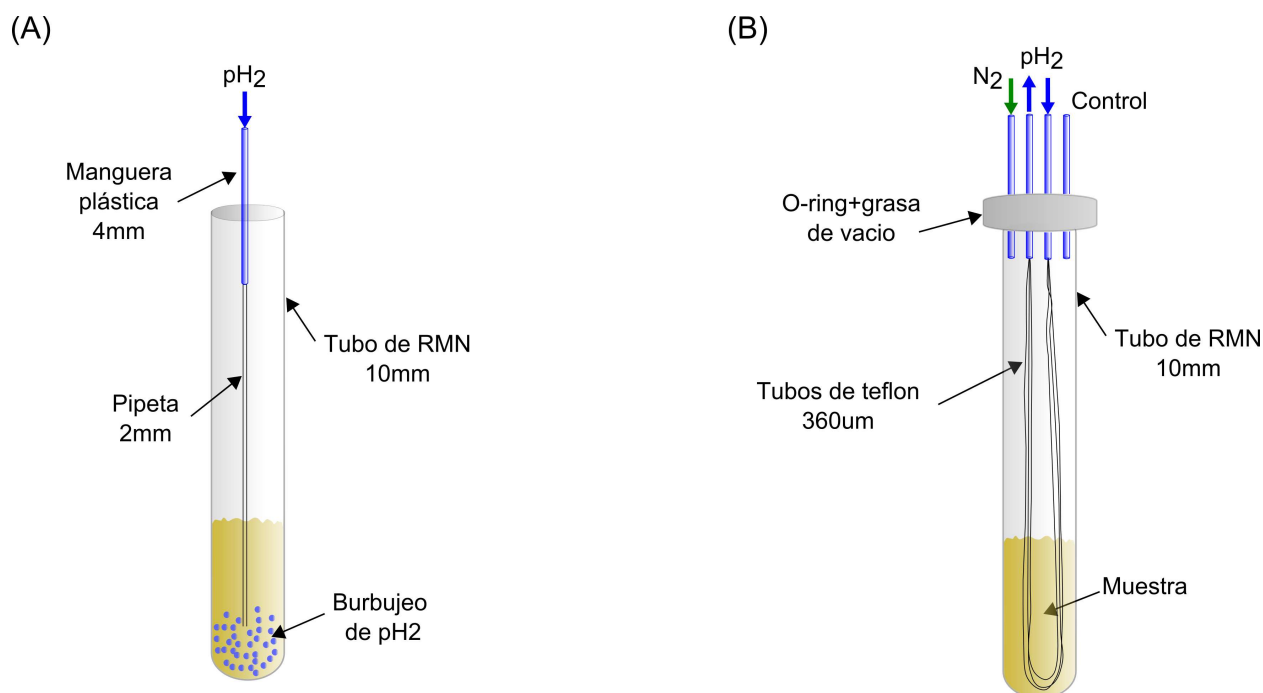


Figura 4.17: Esquema de los arreglos experimentales para incorporar pH_2 a la muestra. **(A)** Burbujeo de pH_2 directamente sobre la muestra a presión y temperatura ambiente. Este sistema es mucho mas precario, pero sumamente fácil y barato de construir, y como se verá en los siguientes capítulos, se utilizó satisfactoriamente para desarrollar la técnica PhD-PHIP. **(B)** Sistema utilizado para incorporar pH_2 a alta presión (9 Bar) sin burbujas utilizando tubos permeables de teflón. Permite ajustar la presión dentro del tubo de RMN utilizando N_2 . De esta forma, se tiene mayor control sobre la reacción, se puede variar la temperatura y todo el sistema se encuentra libre de oxígeno.

Molécula	ζ_{12}	Intensidad de la señal PHIP
1-hexene	33	3.86781
cis-2-hexene	0.54	1.70062
cis-3-hexene	0	0.28631

Tabla 4.1: A medida que el sistema de espines se *aleja* de la condición ideal AX ($\zeta_{12} \gg 1$), la intensidad de la señal PHIP disminuye.

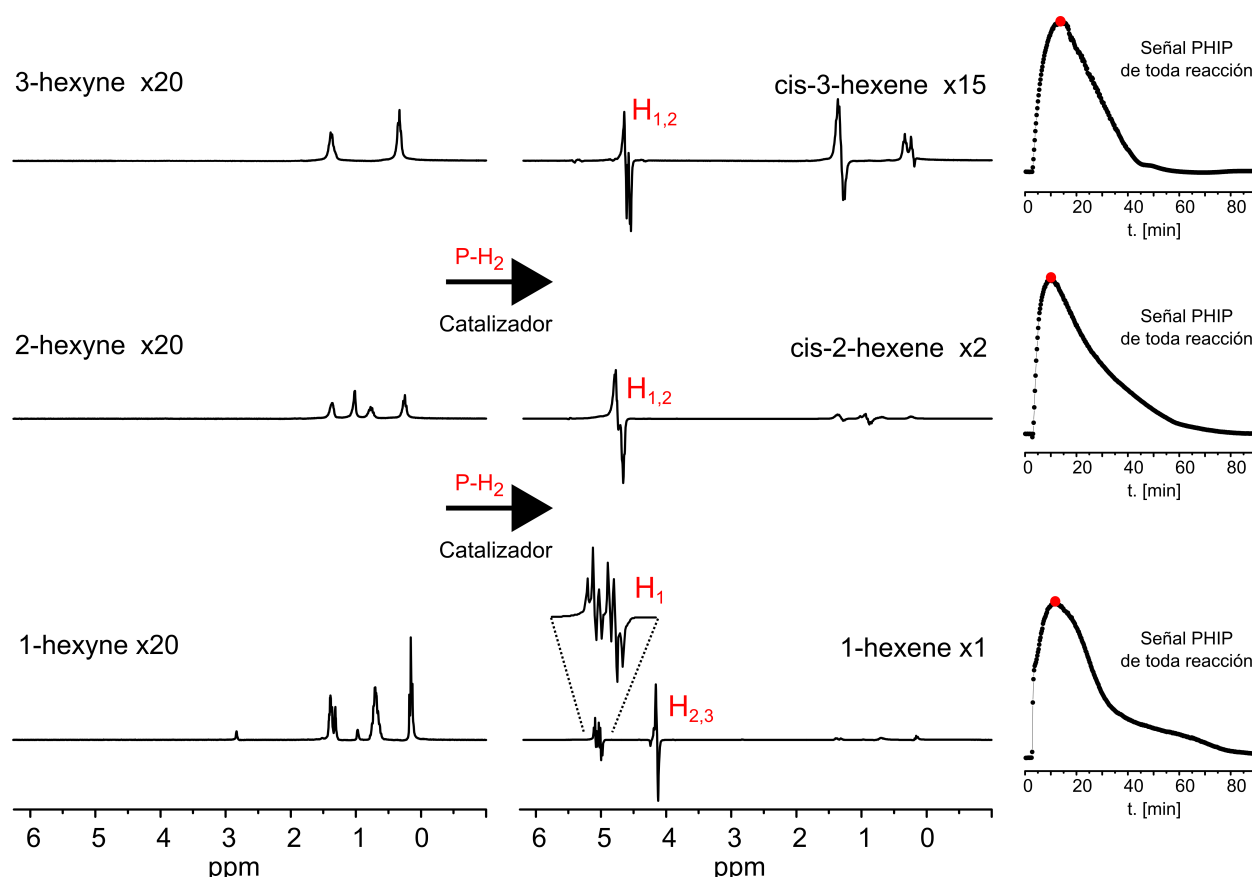


Figura 4.18: Espectros de alta resolución antes y después de la hidrogenación con pH_2 de 1/2/3-hexyne utilizando el arreglo experimental (A) (ver Fig. 4.17). Se monitoreó toda la reacción química con una FID mientras se incorporaba pH_2 al 92 %. Se muestran las integrales de los picos H_1 y $H_{2,3}$ para cada FID adquirida en función del tiempo de reacción con un pulso $\pi/4$. Los espectros mostrados corresponden al máximo de la señal PHIP obtenida en toda la reacción (punto rojo).

Aún cuando el sistema presenta características de sistema A_2 ($\zeta_{12} = 0$), en cis-3-hexene se observa señal PHIP y parte de la polarización se transfiere a los otros protones de la molécula (0.5 ppm y 1.5 ppm). Por otro lado, y en concordancia con lo mostrado en la sec. 4.1.2.2, el espectro de 1-hexene muestra una gran transferencia de polarización al protón H_3 debido al fuerte acoplamiento- J entre H_3 y H_1 del orden de 17 Hz. Cabe destacar, que el mismo efecto se observa si se realizan reacciones con un catalizador que logre disponer el pH_2 de forma *trans* en la moléculas 2/3-hexene, pero la intensidad es aun menor.

Los espectros del 1-hexyne y del 1-hexene muestran la potencia de la técnica en cuando a la intensidad lograda. Vemos que con una sola reacción química es posible obtener una

señal PHIP considerablemente intensa, incluso si se compara con las señales térmicas de los otros protones en la molécula que se encuentran entre 0 ppm y 2 ppm. Es difícil realizar un análisis cuantitativo del incremento de la señal PHIP obtenida, ya que debido a la imposibilidad de estimar la cantidad exacta de moléculas que reaccionan con el pH_2 cuando se realiza la medición, no es posible comparar una señal PHIP con una señal térmica de la molécula producto. Cualitativamente, podemos estimar una cota superior del incremento de la señal PHIP normalizando las intensidades de todos los espectros al máximo de la reacción (punto rojo). Esto resulta en un incremento de aproximadamente dos ordenes de magnitud comparado con el final de la reacción ($t = 90$ min), donde no hay más pH_2 en la muestra que reaccione con el pH_2 y solo se observan los picos térmicos de H_1 y $H_{2,3}$ de 1-hexene.

En la Fig. 4.19 se muestran los espectros obtenidos antes y después de la hidrogenación de las biomoléculas mostradas en la Fig. 4.16. Los espectros muestran señales PHIP análogas a las de 1-hexene, ya que luego de la incorporación de pH_2 se forma un sistema de tres espines de características similares. En el caso del espectro de la *Biomol2* se observan dos picos PHIP en 5.8 ppm y 4.7 ppm los cuales interfieren con las señales de los picos H_1 y H_{23} respectivamente. Esta señal hiperpolarizada proviene de los hidrógenos adicionales resultantes de la hidrogenación del doble enlace del grupo carbonilo, la cual a su vez se transfieren al hidrógeno del Nitrógeno más cercano y forma un sistema de dos espines acoplados. Este proceso pudo ser corroborado realizando un espectro de alta resolución en ^{13}C , en el cual se observa un carbono correspondiente a un grupo hidroxilo (metanol) y la desaparición del carbono del grupo carbonilo.

Los espectros mostrados en la Fig. 4.18 se obtuvieron mediante la excitación de la muestra con un solo pulso de r.f. de $\pi/4$. El resultado es una señal de RMN que decae con un tiempo característico de relajación T_2^* , el cual está sujeto a las inhomogeneidades del campo magnético externo B_0 (ec. 3.8). En este caso, los espectros obtenidos corresponden a espectros de alta resolución con un ancho de línea de no más de 2 Hz, debido a que se tomó especial recaudo en homogeneizar el campo externo mediante las bobinas compensadoras de *shimming*. Este tipo de configuraciones experimentales lleva mucho tiempo y la mayoría de las veces no es posible optimizar este proceso para obtener espectros de alta resolución. En general, se utiliza la técnica de burbujeo de pH_2 directamente sobre la muestra (arreglo experimental **(A)** de la Fig. 4.17), ya que es una manera rápida y simple de obtener

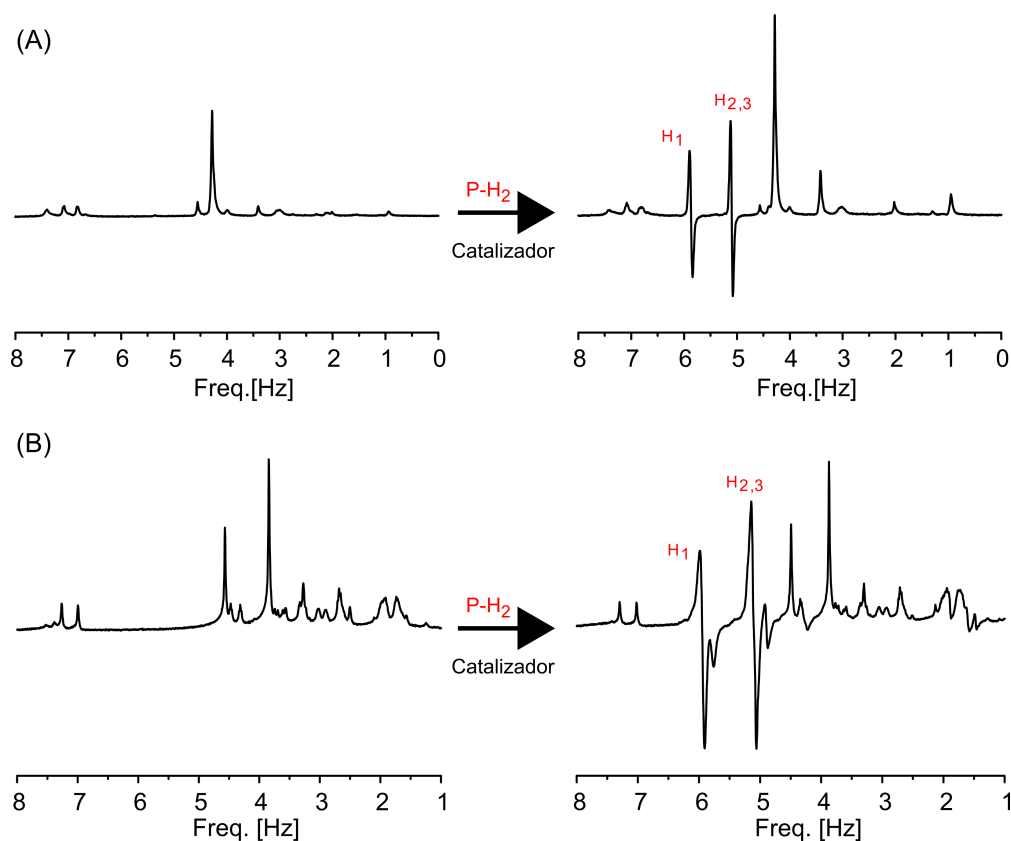


Figura 4.19: (A) Espectros antes y después de la hidrogenación con pH_2 de *BioMol1* utilizando el arreglo experimental (B) (ver Fig. 4.17). (B) Lo mismo que en (A) pero utilizando la molécula *BioMol2*.

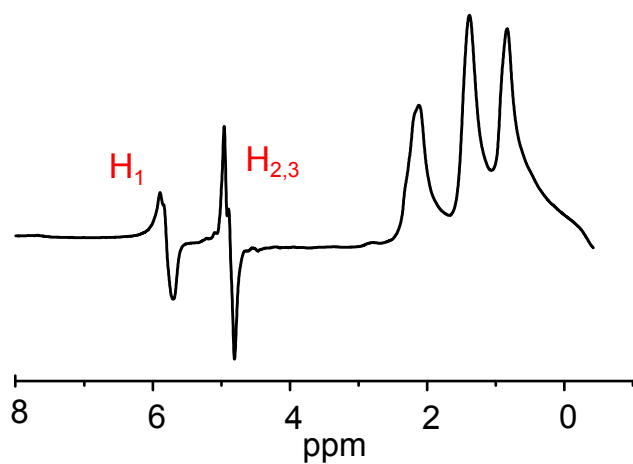


Figura 4.20: Espectros de baja resolución después de la hidrogenación con pH_2 de 1-hexyne utilizando el arreglo experimental (A) (ver Fig. 4.17).

señales hiperpolarizadas. Así, lo normal es obtener espectros como el de la Fig. 4.20, donde no es posible visualizar la estructura interna de cada pico, la cual da información de los acoplamientos- J de la molécula, y la intensidad de la señal PHIP se ve afectada debido a su carácter de antifase, como se muestra en la Fig. 3.3 **(B)**.

Capítulo 5

CPMG y Espectroscopía- J

En la RMN de líquidos, la aplicación de una secuencia de Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) [26] genera un decaimiento que está modulado por la evolución con el Hamiltoniano de acoplamientos- J . En este capítulo se describe la espectroscopía- J aplicada a señales PHIP. Es importante destacar dos puntos fundamentales a la hora de entender esta técnica. Primero, como se dijo anteriormente, se elimina la cancelación parcial del pico debido a la alta resolución de un espectro- J , por lo general en el orden de 0.1 Hz. Por otro lado, la evolución de los operadores de densidad en señales PHIP bajo esta secuencia difiere sustancialmente de los operadores que surgen de la polarización térmica, esto resulta en una separación de frecuencias de ambos tipos de señales, incluso en situaciones experimentales en donde las señales provenientes de protones térmicamente polarizados están mezclados con las señales de protones hiperpolarizados. Nos referimos a este método como PhD-PHIP por Parahydrogen Discriminated PHIP [36, 49, 50].

5.1. CPMG

Como se mencionó anteriormente, la baja resolución del espectro PHIP de la Fig. 4.20 comparada con la Fig. 4.18 se debe a la inhomogeneidad del campo B_0 . Es posible solucionar este problema aplicando una secuencia de pulsos, la cual consiste en un tren de pulsos de π de refocalización posteriores a un pulso de excitación que, para el caso de que la señal sea PHIP, debe ser de $\pi/4$. El resultado es un tren de ecos, conocido comúnmente como CPMG (ver Fig. 5.1), donde el decaimiento del máximo de cada eco corresponde al tiempo

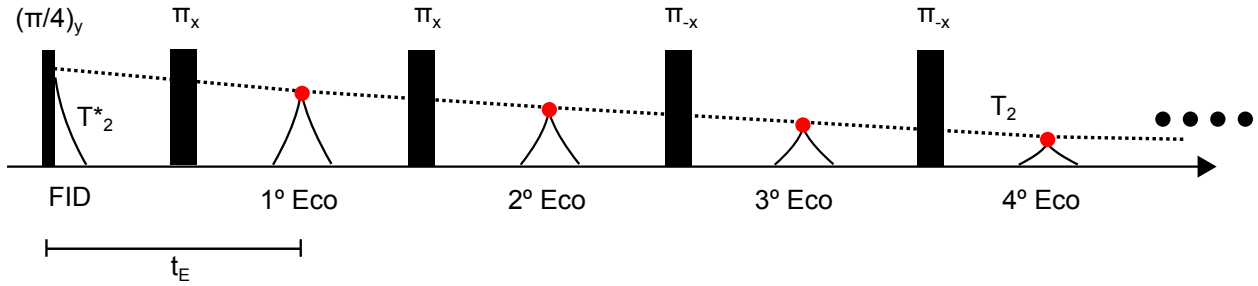


Figura 5.1: Esquema de la secuencia CPMG. La línea punteada corresponde al decaimiento del máximo de cada eco adquirido, los cuales decae exponencialmente con $T_2 \gg T_2^*$ en líquidos.

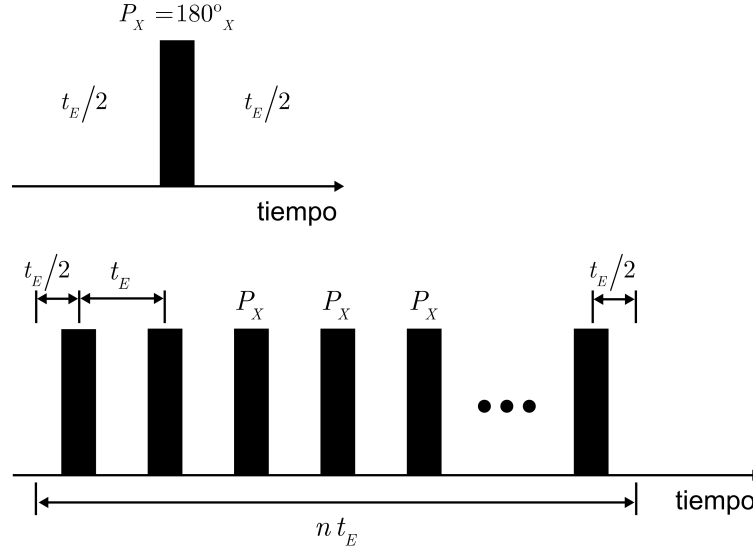
de relajación T_2 y es independiente de las inhomogeneidades en el campo B_0 . Esta secuencia es una modificación de la secuencia conocida como CP [25], introducida en 1954 por H. Y. Carr and E. M. Purcell, la cual a su vez es una reformulación y extensión de fenómeno conocido como espín eco o eco de Hahn [51].

En la Fig. 5.1, se muestra la secuencia de pulsos utilizada en este trabajo, donde se esquematizan los ecos obtenidos luego de cada pulso de π separados por un tiempo conocido como tiempo de eco t_E . Se realiza una adquisición estroboscópica en el máximo de cada eco, para garantizar la refocalización total de las inhomogeneidades de campo. Las fases de los pulsos de π pueden variar dependiendo del experimento que se realice, en este trabajo se utilizó mayormente el ciclado de fase ($x x \bar{x} \bar{x}$), para un pulso de excitación con fase y , el cual nombraremos como $CPMG - 4$. En la sección 5.2.2, se detallan los diferentes ciclados y se argumenta experimentalmente porqué se utilizó este ciclado para realizar los experimentos de espectroscopía- J .

5.2. Espectroscopía- J

En esta sección se presentan las bases teóricas detrás de la adquisición y el procesamiento de datos de la llamada espectroscopía- J , o de manera mas general, la espectroscopía espín-eco.

En líquidos isotrópicos, donde las interacciones dipolares se promedian a cero y no existe intercambio químico en la muestra, se puede considerar solo las interacciones internas correspondientes a los acoplamientos- J de la molécula. Por lo tanto, el sistema puede ser descrito

**Figura 5.2:** Esquema de la secuencia CPMG.

completamente con el Hamiltoniano en el sistema rotante 3.10,

$$\mathcal{H} = 2\pi \sum_j^N \nu_j I_j^z + 2\pi \sum_{j < k}^N J_{jk} \mathbf{I}_j \cdot \mathbf{I}_k. \quad (5.1)$$

Supongamos que el sistema se encuentra en un estado inicial $\rho(0)$ durante la formación del primer eco. Denotemos como P_x el pulso de refocalización de π en la dirección x del sistema rotante como se indica en la Fig. 5.2.

Descomponiendo la secuencia para un solo eco, existe un periodo inicial de evolución libre bajo el Hamiltoniano \mathcal{H} de duración t_E , seguido de un pulso de π y una segunda evolución libre, también de duración t_E . De esta forma, se puede escribir la evolución del estado inicial para un t bajo este Hamiltoniano independiente del tiempo como:

$$\rho(t) = \mathcal{U}(t)\rho(0)\mathcal{U}^\dagger(t), \quad (5.2)$$

donde $\mathcal{U}(t) = \exp(-i\mathcal{H}t)$ es el operador de evolución temporal, o propagador [30]. Para un solo eco, se puede escribir,

$$\mathcal{U}(t_E) = \mathcal{U}(t_E/2)P_x\mathcal{U}(t_E/2). \quad (5.3)$$

Insertando la identidad $\mathbb{I} = P_{-x}P_x$ en la parte derecha de esta ecuación y reagrupando los términos se obtiene,

$$\mathcal{U}(t_E) = \mathcal{U}(t_E/2)P_x\mathcal{U}(t_E/2)P_{-x}P_x = \mathcal{U}(t_E/2)\tilde{\mathcal{U}}(t_E/2)P_x. \quad (5.4)$$

Donde $\tilde{\mathcal{U}}(t_E/2)$ no es otra cosa que la versión rotada del propagador, que resulta en:

$$\tilde{\mathcal{U}}(t_E/2) = P_x \mathcal{U}(t_E/2) P_{-x} = P_x \exp(-i\mathcal{H}t_E/2) P_{-x} = \exp(iP_x \mathcal{H} P_{-x} t_E/2). \quad (5.5)$$

Equivalentemente, definimos $\tilde{\mathcal{H}}$ como la versión rotada de \mathcal{H} ,

$$\tilde{\mathcal{H}} = P_x \mathcal{H} P_{-x} = -2\pi \sum_j^N \nu_j I_j^z + 2\pi \sum_{j<k}^N J_{jk} \mathbf{I}_j \cdot \mathbf{I}_k. \quad (5.6)$$

Se puede ver como los pulsos de refocalización producen una inversión de signo en los términos lineales en los operadores de espín del Hamiltoniano, es decir los términos Zeeman, y dejan inalterados los términos bilineales, términos que corresponden a acoplamientos- J entre los espines, ya que son invariantes ante rotaciones unitarias. Combinando la ecs.5.4 y 5.6,

$$\mathcal{U}(t_E) = \exp(-i\mathcal{H}t_E/2) \exp(-i\tilde{\mathcal{H}}t_E/2) P_x, \quad (5.7)$$

obtenemos una expresión general del propagador sobre el eco, para un sistema de N espines $1/2$ acoplados.

Si los espines del sistema están débilmente acoplados ($|\nu_j - \nu_k| \gg |J_{jk}|$), entonces podemos aproximar el término de acoplamiento- J en \mathcal{H} a solo la parte secular, es decir,

$$\mathcal{H}_w = 2\pi \sum_j^N \nu_j I_j^z + \underbrace{2\pi \sum_{j<k}^N J_{jk} I_j^z I_k^z}_{\mathcal{H}_w^J}. \quad (5.8)$$

Así, solo quedan las componentes en z del acoplamiento y ambos términos del Hamiltoniano \mathcal{H}_w conmutan. El propagador en este caso puede escribirse como,

$$\mathcal{U}_w(t_E) = \exp(-i\mathcal{H}_w t_E/2) \exp(-i\tilde{\mathcal{H}}_w t_E/2) P_x. \quad (5.9)$$

Debido a que los Hamiltonianos de antes y después de la rotación en la condición de acoplamiento débil conmutan, $[\mathcal{H}_w, \tilde{\mathcal{H}}_w] = 0$, es posible reescribir la ecuación anterior como,

$$\mathcal{U}_w(t_E) = \exp \left\{ -i \left(\mathcal{H}_w + \tilde{\mathcal{H}}_w \right) t_E/2 \right\} P_x. \quad (5.10)$$

Dado que $\mathcal{H}_w + \tilde{\mathcal{H}}_w = 2\mathcal{H}_w^J$, se obtiene

$$\mathcal{U}_w(t_E) = \exp(-i\mathcal{H}_w^J t_E) P_x \equiv \mathcal{U}_w^J(t_E) P_x. \quad (5.11)$$

Agregando el segundo eco directamente después del primero obtenemos el propagador,

$$\mathcal{U}_w(t_E)\mathcal{U}_w(t_E) = \mathcal{U}_w^J(t_E)P_x\mathcal{U}_w^J(t_E)P_x = \mathcal{U}_w^J(2t_E)P_xP_x. \quad (5.12)$$

Siguiendo este mismo razonamiento, podemos obtener la expresión del propagador para los n ecos de la secuencia, como:

$$\underbrace{\mathcal{U}_w(t_E)...\mathcal{U}_w(t_E)}_{n-\text{veces}} = \mathcal{U}_w^J(nt_E) \underbrace{P_x...P_x}_{n-\text{veces}}. \quad (5.13)$$

En general, es posible descartar del propagador anterior el término correspondiente a los pulsos de r.f cuando se aplica un pulso de excitación a 90° del pulso de refocalización. En este caso particular, el pulso de excitación se aplica en la dirección y del sistema rotante, lo cual produce una magnetización en la dirección x . Así, la evolución con los pulsos $P_x...P_x$ no afectará al estado y se puede reescribir la ec. 5.13 como:

$$\underbrace{\mathcal{U}_w(t_E)...\mathcal{U}_w(t_E)}_{n-\text{veces}} = \mathcal{U}_w^J(nt_E). \quad (5.14)$$

Esto significa que las intensidades de los ecos se modulan solo por la evolución del Hamiltoniano de acoplamiento- J débil. La Fig. 5.3 muestra simulaciones numéricas en un sistema de dos espines con el fin de ejemplificar los resultados posteriores. Cuando ambos espines son magnéticamente equivalente todos los ecos tienen la misma forma y sus intensidades máximas están moduladas por una función exponencial, como por lo general se observa en agua. Incluso si los dos espines tienen diferentes desplazamientos químicos pero no existe acoplamiento- J entre ellos, las intensidades del máximo de cada eco presentan un decaimiento monoexponencial, aunque aparece una modulación en cada eco. En el caso de que el sistema de espines esté débilmente acoplado, la CPMG forma un tren de ecos con sus intensidades máximas moduladas por la evolución que se describe en la ec. 5.14.

Aquí radica la base del método de espectroscopia- J , el cual consiste en realizar una Transformada de Fourier al máximo de cada eco y de esta forma obtener la información espectral sobre los acoplamientos- J presentes en la molécula. La idea fue introducida por primera vez de manera teórica y experimental en 1961 por Powles and Hartland [52]. En este trabajo, los autores utilizan una secuencia multipulso para determinar el acoplamiento- J en líquidos, obtienen un formula cerrada para los tres primeros ecos y, para el caso de acoplamiento débil, muestran que el sistema de espines solo evoluciona con el Hamiltoniano \mathcal{H}_w^J , como se mostró

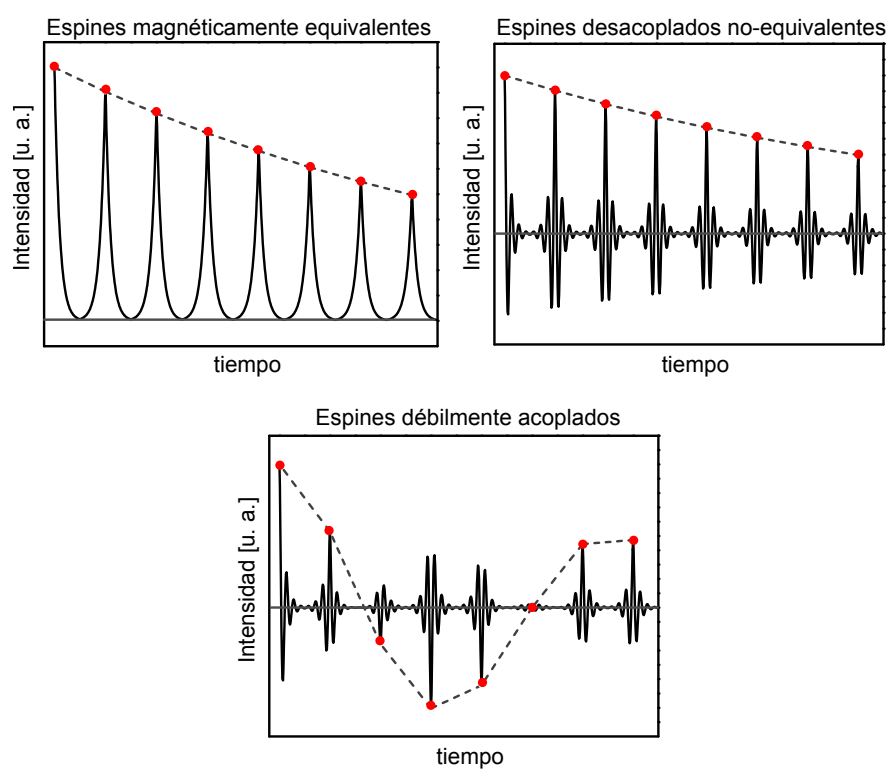


Figura 5.3: Modulación de los ecos bajo la secuencia de pulsos CPMG debido al acoplamiento- J entre dos espines magnéticamente equivalentes, desacoplados no equivalentes y acoplados débilmente.

en la ec. 5.14. Llamamos a este tipo de experimentos con el nombre de *espectro colapsado*, ya que al no existir evolución con el Hamiltoniano de desplazamiento químico, el espectro resultante se encuentra literalmente colapsado al centro de la ventana espectral.

A comienzos de la década de los 70's, con la ayuda del reciente formalismo de operadores densidad [53, 54], Ray Freeman y D. Hill [27] introducen los términos *Espectroscopía- J* para el caso de espectros obtenidos en la condición de acoplamiento débil utilizando secuencias con la estructura de una CPMG y *Espectroscopía-Espín Eco* para el caso general.

Es posible realizar un listado de las condiciones que se deben cumplir para obtener un espectro- J puro:

- i. El campo magnético B_0 debe ser lo suficientemente fuerte como para asegurar la condición de acoplamiento débil para cada par de espín, es decir, $|\nu_j - \nu_k| \gg |J_{jk}|$, $\forall j, k$. De otra forma, el máximo de cada eco se verá afectado por la evolución con el Hamiltoniano de desplazamiento químico.
- ii. El tiempo de eco utilizado debe ser mayor a la inversa del menor desplazamiento químico en la molécula, es decir, $t_E \gg (\nu_j - \nu_k)^{-1}$, sino las frecuencias en el espectro pueden resultar desplazadas.
- iii. Los pulsos de π deben estar cuidadosamente ajustados. El incorrecto ajuste de los pulsos de refocalización producen falsas líneas de resonancia en el espectro.
- iv. No debe existir otros mecanismos físicos que puedan afectar a la modulación de los ecos, como por ejemplo interacciones dipolares, intercambio químico, etc.

La Fig. 5.4 muestra una simulación numérica de un sistema de dos espines acoplados a los cuales se le aplica un solo pulso para obtener un espectro usual de RMN (**A**) y se compara con un espectro- J (**B**) cuando las cuatro condiciones listadas anteriormente se cumplen al mismo tiempo. Para los cálculos se utilizó un sistema modelo de dos espines acoplados con $J_{12} = 7$ Hz, en un campo $B_0 = 7$ T con $\Delta\nu = 140$ Hz y un tiempo de eco $t_E = 20$ ms. Para simular la relajación del sistema se utilizó una diferencia entre T_2^* y T_2 de aproximadamente un orden de magnitud (lo normal en líquidos isotrópicos), con un $T_2^* = 160$ ms (que produce un ancho de línea de 2 Hz) y $T_2 = 2$ s. Al comparar ambos espectros se puede ver el potencial de este método, ya que el incremento en el ancho de línea del espectro- J es notable, es decir,

$(\pi T_2)^{-1} = 0.16$ Hz. Para mostrar el problema que surge si la condición (ii) no se cumple, en la Fig. 5.4(C) se gráfica al diferencia entre los pico del espectro- J en función del tiempo de eco t_E . Vemos que el valor oscila entre $J_{12} = 7$ Hz, y solo para tiempos de eco lo suficientemente largos se obtiene el valor verdadero.

En el caso que el campo magnético no sea lo suficientemente alto como para generar la condición de acoplamiento débil, la condición (i) se viola y las frecuencias observadas en el espectro- J no estarán asociadas a combinaciones lineales de las constantes de acoplamientos reales en la molécula. El resultado serán espectros- J fuertemente dependientes del tiempo de eco, que llamaremos espectros-espín eco. Para ilustrar este caso, en la Fig. 5.5 se muestran simulaciones de un sistema de tres espines acoplados en ambos regímenes. Se observa como los espectros- J permanecen inalterados a medida que se varia el tiempo de eco y los espectros-espín eco muestran una clara dependencia en su forma en el rango de tiempos de ecos utilizados en esta simulación. Por supuesto que si el tiempo de eco es muy corto (menor a 1 ms para este sistema de espines), el sistema experimentará una suerte de irradiación continua, siendo imposible detectar algún tipo de modulación debido al acoplamiento- J , sin importar la condición de acoplamiento. Por otro lado, el tiempo de eco no puede ser todo lo grande que uno quiera, ya que la señal está modulada por un decaimiento exponencial, y a medida que aumenta el tiempo de eco, la intensidad disminuye.

5.2.1. Espectros- J Parciales

Ya sea en el caso de acoplamiento débil como en el fuerte, cuando tratamos con sistemas de varios espines acoplados, el espectro- J puede llegar a ser difícil de interpretar correctamente debido a la interferencia de los multipletes dentro de un pequeño rango de frecuencias. En la Fig. 5.5 se puede ver como, aún cuando el sistema de tres espines tiene solo dos acoplamientos distintos de cero, aparecen ocho picos en el rango de 20 Hz para los espectros- J , y entre tres y trece líneas en los espectros-espín eco, dependiendo del tiempo de eco. Una forma de simplificar este tipo de espectros fue propuesta por Ray Freeman y D. Hill en el mismo artículo antes mencionado [27], la cual consiste realizar una CPMG, con un filtro digital centrado en la posición de desplazamiento químico del multiplete que se desee. Así, dado un sistema de N espines acoplados, es posible realizar una N cantidad de experimentos con diferentes filtros digitales y obtener N subespectros. Los autores proponen el nombre de

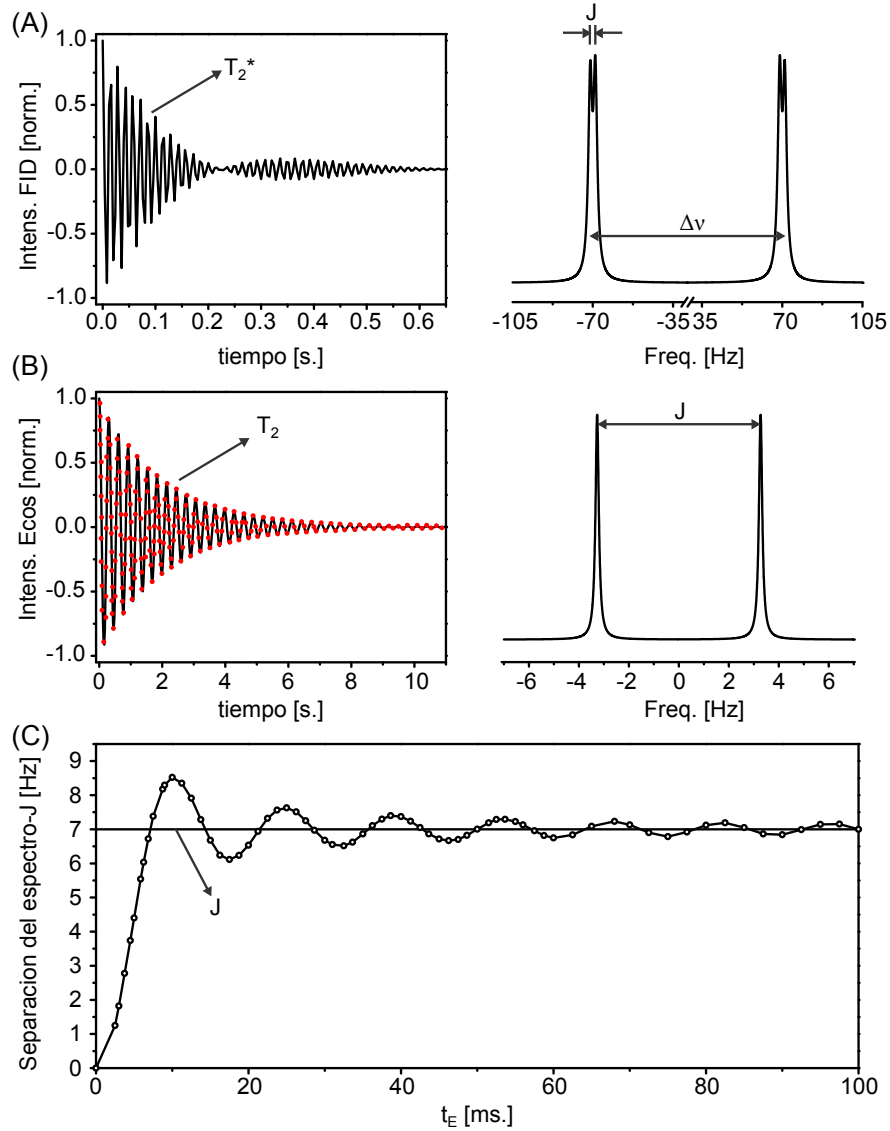


Figura 5.4: (A) Espectro simulado luego de un pulso de r.f para un sistema aislado de dos espines débilmente acoplados. Se muestra el desplazamiento químico y el acoplamiento- J . (B) Espectro- J simulado utilizando el mismo sistemas de espines pero ahora bajo una secuencia CPMG. Los puntos rojos corresponden al máximo de cada eco, los cuales se adquieren estroboscópicamente para luego realizar una transformada de Fourier. (C) Separación de los picos en el espectro- J en función del tiempo de eco de la CPMG. Solo para valores grandes de t_E es posible obtener el verdadero acoplamiento- J .

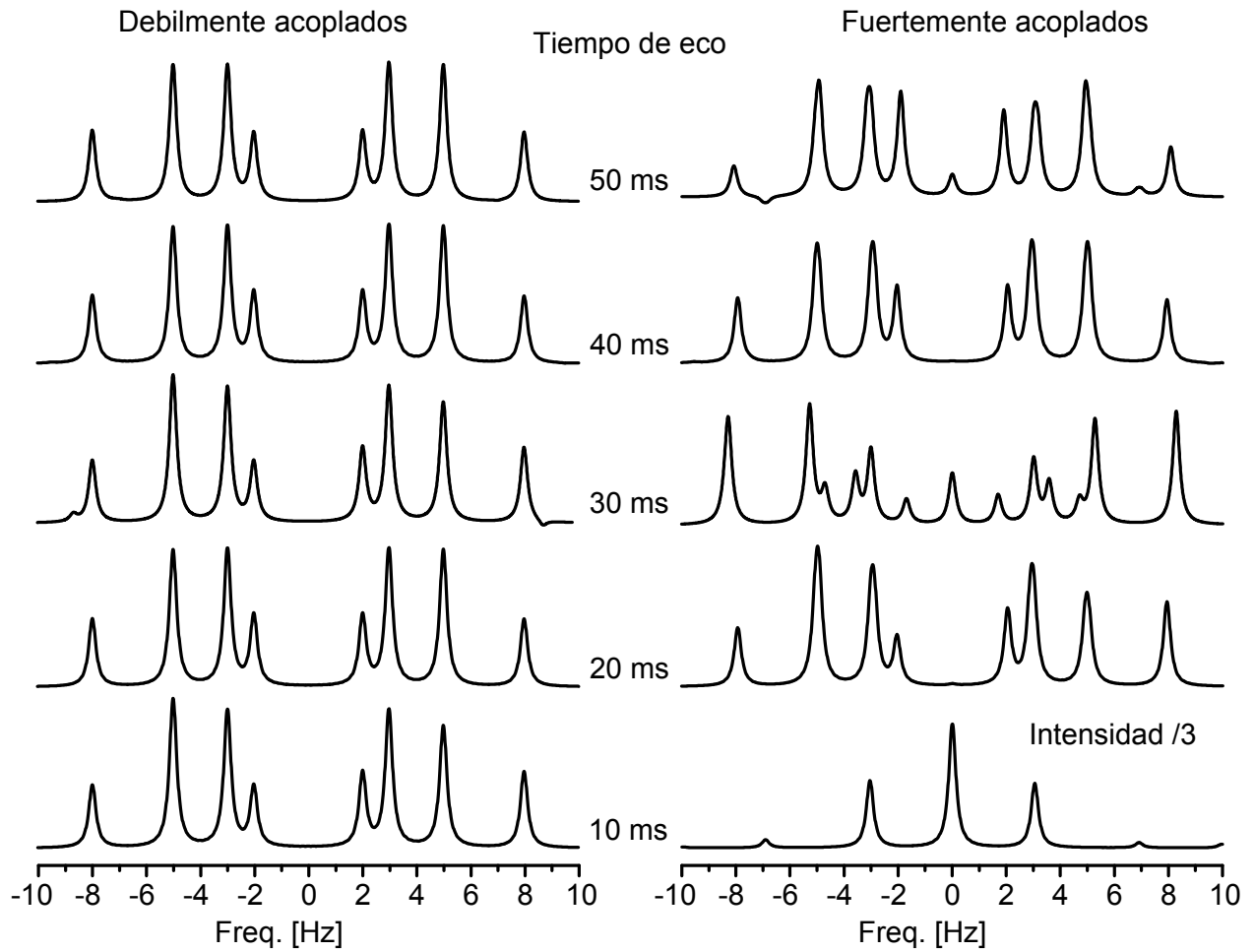


Figura 5.5: Simulaciones numéricas para un sistema de tres espines débil (izquierda) y fuertemente (derecha) acoplados con los siguientes parámetros: $J_{12} = 10$ Hz, $J_{13} = 6$ Hz, $J_{23} = 0$ Hz, y un campo magnético que satisface $\Delta\nu_{12}/J_{12} = 100$ (débil) y $\Delta\nu_{12}/J_{12} = 5$ (fuerte). Bajo el acoplamiento fuerte, el espectro depende fuertemente del tiempo de eco de la CPMG. Para comparar los espectros, cada uno fue normalizado a su intensidad máxima.

espectroscopia- J parcial o espectroscopía-espín eco parcial a esos subespectros obtenidos en cada medición de una CPMG con un filtro digital.

El método puede entenderse gráficamente si se observa la Fig. 5.6. A la izquierda se muestra un esquema de la molécula de etanol junto con simulaciones en alta resolución que permiten distinguir la estructura interna de cada pico de resonancia. Se realizaron tres experimentos, el primero es un espectro- J sin filtro digital, donde se aprecia la estructura de los dos picos colapsada en el centro del espectro. Luego, utilizando un filtro digital de 500 Hz, se midieron espectros- J parciales por separado en cada pico. El resultado muestra una concordancia perfecta con los espectros simulados numéricamente ya que se puede apreciar como la línea de resonancia de los dos protones del grupo metileno se desdobra en un cuatriplete (ya que están acoplados débilmente a los tres protones del grupo metilo) y como los tres protones del grupo metilo forman un triplete debido a su acople ($J = 7$ Hz) con los dos protones del grupo metileno.

Utilizando nuevamente el etanol como molécula de prueba, se puede mostrar la potencia del espectroscopía- J . En la Fig. 5.7 se comparan los diferentes espectros- J parciales de cada pico del etanol con un espectro usual realizando una FID bajo la misma condición de homogeneidad de campo B_0 . Agregando deliberadamente inhomogeneidades en la dirección z de B_0 utilizando las bobinas de shimming, se puede ver como a medida que se pierde resolución en un espectro usual, los espectro- J permanecen inalterados.

5.2.2. Consideraciones experimentales

Usualmente, la RMN de líquidos se lleva a cabo en tubos de RMN de 10 mm de diámetro, en donde el largo de la muestra excede las dimensiones del volumen sensitivo dado por el largo de la bobina de detección. Así, es posible eliminar las distorsiones de campo magnético debido a los cambios en la susceptibilidad en la interfaz líquido-aire. Alternativamente, se pueden utilizar tubos de RMN especialmente diseñados para igualar las susceptibilidades magnéticas como los *Shigemi plugs* o los *Doty Susceptibility Plugs*. En el caso de la espectroscopía- J , dado que la acumulación de fase debida a las inhomogeneidades de B_0 es eliminada en el centro de cada eco adquirido, lo relevante es la homogeneidad del campo de r.f., es decir de B_1 , la cual es necesaria si desea realizar satisfactoriamente una rotación de la magnetización de 180 en cada eco de la secuencia.

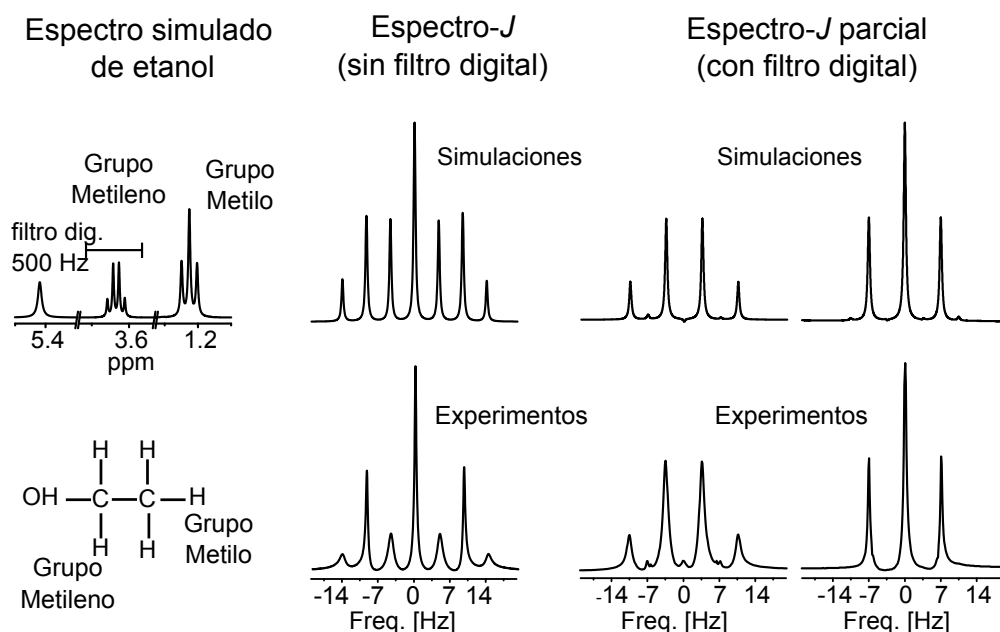


Figura 5.6: (Izquierda) Simulación de un espectro de alta resolución del etanol y esquema de la molécula. (Centro) Espectros- J simulado y medido experimentalmente sin filtro digital. Se observa como todas las líneas de resonancias colapsan al centro del espectro. Las bajas intensidades de las líneas del grupo metileno se deben a los efectos de fuera de resonancia en los pulsos de π , ya que los experimentos se realizaron centrados en el grupo metilo. (Derecha) Espectros- J parciales realizados a cada grupo de protones de la molécula, donde las intensidades concuerdan perfectamente con las simulaciones, ya que cada espectro- J parcial fue adquirido en resonancia.

La forma mas sencilla de obtener un campo de r.f. lo mas homogéneo posible es disminuir el tamaño de la muestra con respecto al volumen de detección. En la Fig. 5.8 se muestran diferentes espectros- J de etanol utilizando diferentes tamaño de muestra en tubos de 10 mm de diámetro. El efecto de la inhomogeneidad del B_1 en el espectro- J es evidente cuando la muestra excede el volumen de detección (Fig. 5.8 **Derecha**).

La adquisición de los espectros- J parciales fue realizada usando el filtro digital de la consola Bruker Avance II 300. En general, los equipos mas modernos de RMN suelen estar diseñados para realizar una adquisición de datos digital con *sobremuestreo* y, dependiendo de fabricante o el modelo del espectrómetro, la adquisición de datos puede ser continua o estroboscópica. En cualquier caso, entre el comando de inicio de adquisición y el muestro de los datos, la mayoría de los equipos adquieren una serie de puntos que utilizan para calcular el

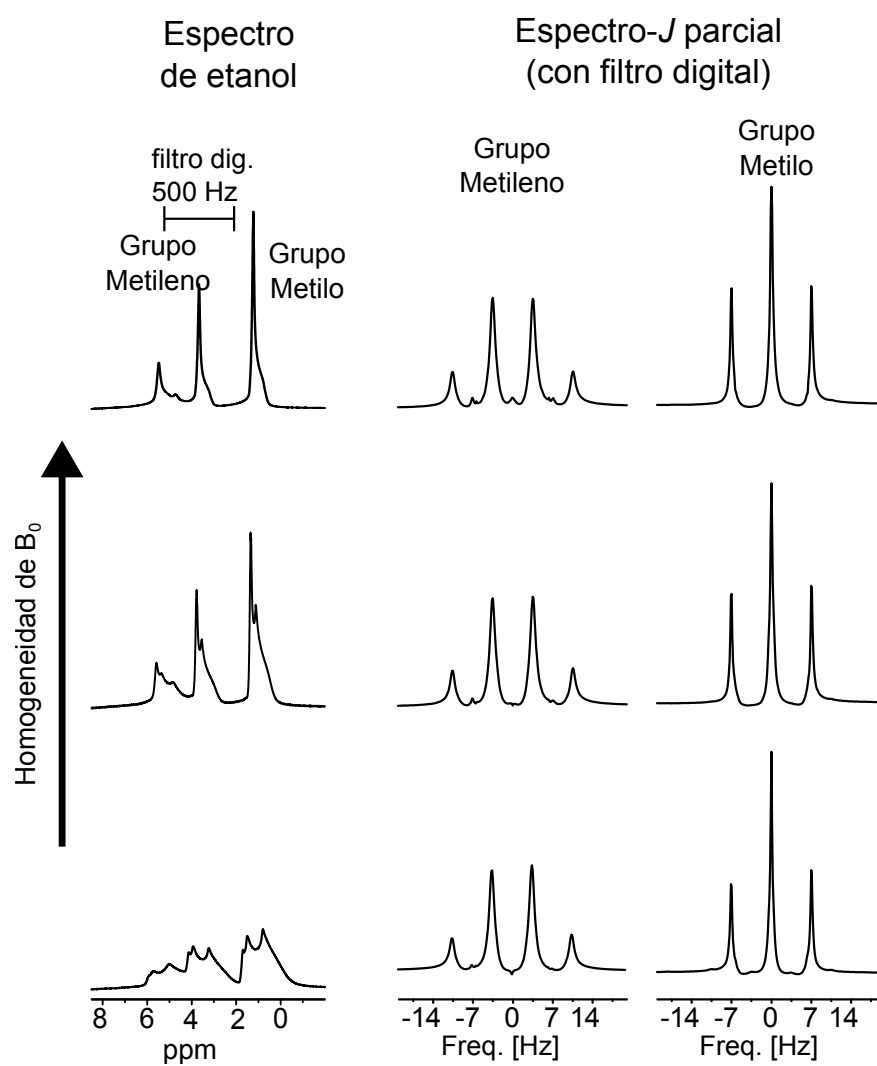


Figura 5.7: Comparación de un espectro usual de RMN en etanol con un espectro- J parcial modificando la inhomogeneidad del campo B_0 utilizando las bobinas de shimming. Se puede observar como la inhomogeneidad del campo externo no afecta a los espectros- J de cada pico aun cuando el espectro usual es de muy baja resolución.

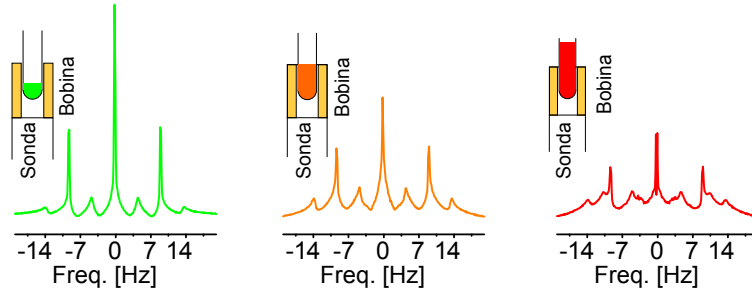


Figura 5.8: Espectros- J de etanol para diferentes tamaños de muestra. Se observa como afecta la inhomogeneidad del pulso de π al espectro a medida que el tamaño de muestra aumenta con respecto a la bobina de detección.

filtro digital. En esta tesis, se utilizaron filtros de 1 kHz y de 0.5 kHz, los cuales corresponden a tiempos de adquisición, o *dwell time*, de $dw = 0.5\text{ms}$ y $dw = 1\text{ ms}$ respectivamente. Para compensar el tiempo de cálculo del filtro una sola vez en la secuencia, se eligió comenzar la adquisición luego del pulso de excitación. Debido a la forma de adquisición de la consola, es necesario realizar un blaqueo o *blanking* del receptor durante el pulso de π para protegerlo. Así, para obtener buen espectro- J , la condición que debe cumplirse es que la cantidad $t_E/4dw$ tiene que ser un número entero.

Nombre	Ciclado de Fase
CP	$x - (x)_n$
CP-4	$x - (x x \bar{x} \bar{x})_n$
CP-8	$x - (x x \bar{x} \bar{x} \bar{x} x x \bar{x})_n$
CP-16	$x - (x x \bar{x} \bar{x} \bar{x} x x \bar{x} \bar{x} \bar{x} x x \bar{x} \bar{x} x)_n$
CPMG	$y - (x)_n$
CPMG-4	$y - (x x \bar{x} \bar{x})_n$
CPMG-8	$y - (x x \bar{x} \bar{x} \bar{x} x x \bar{x})_n$
CPMG-16	$y - (x x \bar{x} \bar{x} \bar{x} x x \bar{x} \bar{x} \bar{x} x x \bar{x} \bar{x} x)_n$

Tabla 5.1: Diferentes ciclados de fase para las secuencias CP y CPMG.

Para reducir los ecos estimulados sobre el decaimiento del tren de ecos se utilizó el ciclado de fase $(x x \bar{x} \bar{x})$ o CPMG-4 (ver tabla 5.1) sobre el pulso de refocalización [28, 55]. Si bien se probaron otros ciclados de fases comunes en las secuencias CP y CPMG, normalmente son

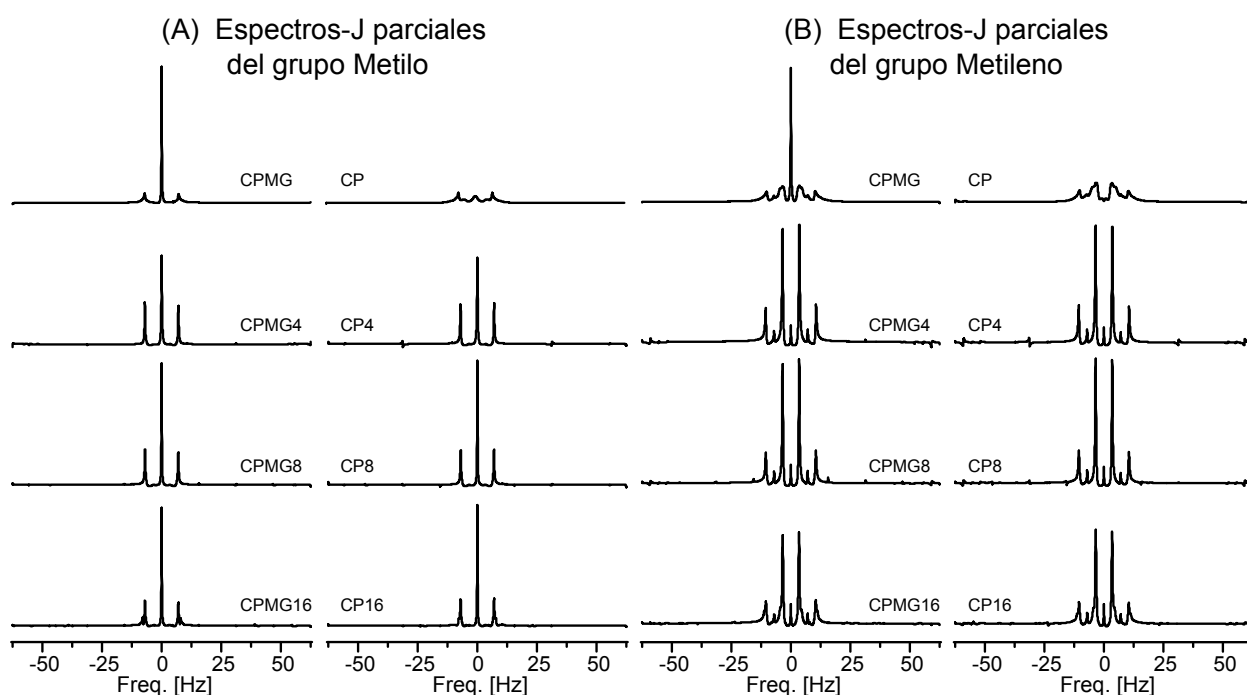


Figura 5.9: Espectros- J parciales de etanol para diferentes ciclados de fase. Se observa parte del triple del grupo Metilo en el espectro- J del Metileno, esto ocurre por la ineficiencia del filtro digital que se utilizó.

utilizados para realizar un análisis directamente sobre el decaimiento de la señal en función del tiempo [56]. Para realizar un buen espectro- J no solo es importante que la señal decaiga lo mas lentamente posible, sino también que se preserve la información sobre los acoplamientos- J de la molécula. Un análisis espectral de la señal con los diferentes ciclados de fase puede verse en la Fig. 5.9. Los resultados muestran que con el ciclado CPMG-4 se obtiene un mejor espectro- J , es decir, no solo aparecen los desdoblamientos de cada pico correspondientes a los acoplamientos- J , sino que también las intensidades relativas entre picos son las predichas teóricamente y corresponden las de un espectro de alta resolución. Se observa como el ciclado usual CPMG, que si bien produce una señal que decae lentamente, si se le aplica una FFT produce un pico en el centro del espectro- J de gran intensidad que no proviene de ningún acoplamiento- J , sino de errores en los pulsos que acumulan un decaimiento en la dirección del campo externo B_0 , y por lo tanto da lugar a un decaimiento mas lento con T_1 [57]. Este proceso puede ser comparado con la formación de un eco estimulado [58], en el cual se forma un eco donde su intensidad depende tanto de T_2 como de T_1 a través de una secuencia de tres pulsos de $\pi/2$ con la misma fase.

	$^1H(d.c)$	H_1	H_2	H_3	$H_{4,5}$
H_1	5.8 ppm	-	10.2 Hz	17 Hz	6.7 Hz
H_2	4.92 ppm	-	-	2.2 Hz	1.2 Hz
H_3	4.96 ppm	-	-	-	1.6 Hz
$H_{4,5}$	2.06 ppm	-	-	-	-

Tabla 5.2: Parámetros utilizados para realizar la simulación numérica de la reacción de 1-hexyne a 1-hexene y los espectros de la Fig. 5.10.

5.3. PhD-PHIP

Cualquier método que elimine las inhomogeneidades de campo magnético para aumentar la resolución espectral es siempre bienvenido, mas que nada en PHIP, donde la particular forma de antifase del espectro puede producir una cancelación parcial de los picos (ver Fig. 3.3). Este efecto se ve acrecentado en PASADENA, donde las separaciones de los picos con intensidades opuestas son proporcionales a las constantes de acoplamiento- J , típicamente del orden de unos pocos Hz [28, 59]. En el caso de ALTADENA, estas las separaciones son proporcionales a las diferencias de desplazamiento químico. Como se mencionó anteriormente, en esta tesis no se trabajó en la condición ALTADENA, por lo tanto, la descripción que se realizará a continuación está restringida a PASADENA.

Las inhomogeneidades que afectan a la señal PHIP pueden provenir directamente de la inhomogeneidad de campo B_0 o por la presencia de elementos dentro de la sonda de medición que perturben el campo de polarización, lo que es muy común en los experimentos PASADENA, donde es necesario un arreglo experimental para incorporar gas a través de burbujeo o membranas permeables dentro de la muestra. La utilización de la CPMG para adquirir señales en alta resolución abre la posibilidad de detectar señales PHIP en nuevas situaciones, incluyendo arreglos experimentales especiales o muestras mas complejas. En la Fig. 5.10 muestra la técnica de espectroscopía- J parcial en la señal PHIP en la condición PASADENA en la hidrogenación del 1-hexyene. Se puede ver la concordancia perfecta con las simulaciones, las cuales fueron realizadas como se explicó en la sec. 4.1.2 utilizando un sistema de 5 espines acoplados con los parámetros de la tabla 5.2.

La molécula de 1-hexene dista de ser un sistema puro de espines débilmente acoplados,

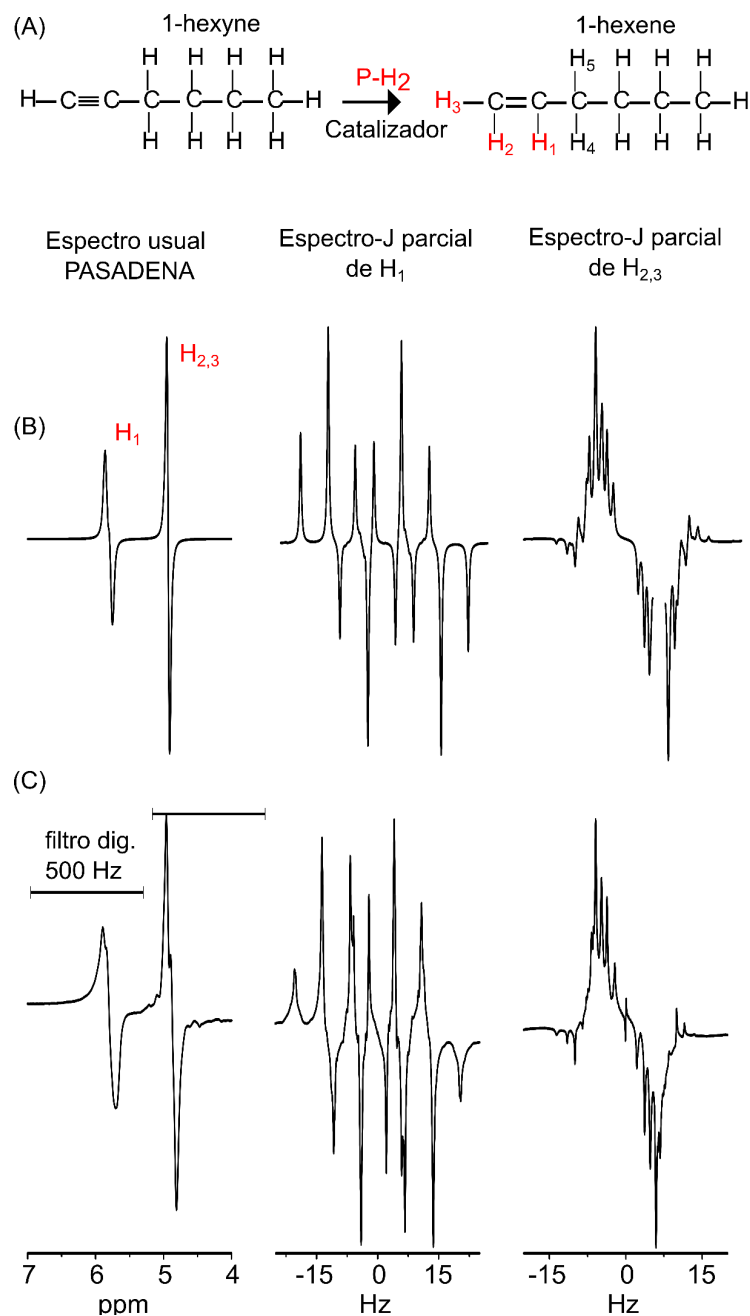


Figura 5.10: (A) Esquema de la hidrogenación con $p\text{H}_2$ del 1-hexyne. (B) Simulaciones del espectro usual PHIP y de los espectros- J parciales de cada pico. (C) Datos experimentales de un espectro usual PHIP y de los espectros- J parciales obtenidos aplicando un filtro digital 500 Hz en cada pico (barras horizontales) con $t_E = 8$ ms

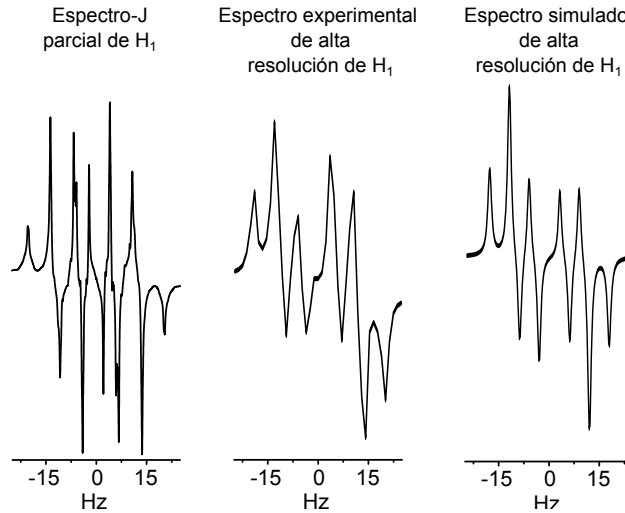


Figura 5.11: Comparación de un espectro- J y un espectro usual, experimental y simulado, de alta resolución. Se puede observar un pico en antifase de mas en el centro del espectro- J , esto ocurre porque el sistema de espines no es un sistema completamente AX.

por lo tanto el espectro- J resultante se ve afectado con algunas frecuencias que provienen de la evolución con el Hamiltoniano de desplazamiento químico, es decir, se viola parte de la condición (i) de la sección 5.1. Esto se puede apreciar en la Fig. 5.11, donde se compara el espectro- J parcial obtenido experimentalmente con un espectro usual de alta resolución. Vemos como aparece un pico en antifase de mas en el centro de espectro- J , el cual no aparece en el espectro de alta resolución ni en su simulación. Para realizar esta simulación se utilizó el mismo operador inicial que en las simulaciones de los espectros- J (ver Fig. 5.10), solo que en este caso se aplica un solo pulso de r.f. de adquisición y al operador resultante, luego de la evolución con \mathcal{H} , se lo multiplica por un decaimiento exponencial dado por $T_2^* = 0.21$ s, el cual equivale a un ancho de línea de 1.5 Hz.

Como se demostrará en este capítulo de manera analítica y experimental, las señales en fase y antifase evolucionan de manera totalmente distinta bajo un tren de pulsos de refocalización, resultando en un desplazamiento en la mitad del ancho espectral entre una señal y otra en el espectro- J . Este efecto se aprovechó para generar un protocolo de medición que provee espectros- J de alta resolución en señales PHIP libres de señales térmicas, el cual denotaremos con el acrónimo PhD-PHIP por sus siglas en ingles (**P**arahydrogen **D**iscriminated-PHIP) [49].

5.3.1. Mecanismos subyacentes

Es posible entender el funcionamiento detrás PhD-PHIP sin pérdida de generalidad analizando el caso mas simple de dos espines débilmente acoplados. Para ello, vamos a comparar la evolución de la matriz densidad del sistema térmicamente polarizado con la matriz densidad justo después de la hidrogenación bajo un tren de pulsos de $(\pi)_x$ (en la dirección x) separados por un tiempo t_E luego de una excitación con un pulso de $(\pi/4)_y$ (en la dirección y).

Comenzando con la ec. 3.36, podemos escribir la matriz densidad inicial para dos espines polarizados térmicamente como,

$$\rho_T(0) \propto (I_1^z + I_2^z), \quad (5.15)$$

que luego del pulso de excitación resulta en,

$$\rho_T(0^+) \propto (I_1^x + I_2^x). \quad (5.16)$$

Como se mencionó anteriormente, en el máximo de cada eco solo existe evolución con el Hamiltoniano de acoplamiento débil \mathcal{H}_W^J . Inmediatamente después de la aplicación del pulso π la matriz densidad del sistema es,

$$\rho_T(t_E/2) \propto (I_1^x + I_2^x) \cos(\pi J_{12} t_E/2) + (2I_1^y I_2^z + 2I_1^z I_2^y) \sin(\pi J_{12} t_E/2). \quad (5.17)$$

El primer término conmuta con el pulso de π_x mientras que el término $(2I_1^y I_2^z + 2I_1^z I_2^y)$ cambia el signo dos veces, es decir, los operadores I_k^z y I_j^z invierten su signo simultáneamente dejando el producto inalterado. Por lo tanto, $\rho_T(t_E/2)$ no se ve alterado por el pulso de refocalización π_x . Para obtener la operador densidad justo sobre el máximo del eco (t_E), realizamos una segunda evolución con \mathcal{H}_W^J durante un tiempo $t_E/2$, el cual resulta en:

$$\rho_T(t_E) \propto (I_1^x + I_2^x) \cos(\pi J_{12} t_E) + (2I_1^y I_2^z + 2I_1^z I_2^y) \sin(\pi J_{12} t_E), \quad (5.18)$$

y produce una magnetización detectable,

$$M_T(t_E) \propto \cos(\pi J_{12} t_E). \quad (5.19)$$

Siguiendo el mismo razonamiento para el segundo eco en la secuencia $(2t_E)$, el operador densidad queda,

$$\rho_T(2t_E) \propto (I_1^x + I_2^x) \cos(\pi J_{12} 2t_E) + (2I_1^y I_2^z + 2I_1^z I_2^y) \sin(\pi J_{12} 2t_E), \quad (5.20)$$

y la señal será,

$$M_T(t_E) \propto \cos(\pi J_{12} 2t_E). \quad (5.21)$$

Por lo tanto, para los n ecos en la secuencia, la magnetización resultante es:

$$M_T(t_E) \propto \cos(\pi J_{12} n t_E), \quad (5.22)$$

es decir, la parte real de los ecos esta modulada por una función coseno. Esto se muestra en la Fig. 5.12 con vectores grises, donde las evoluciones están esquematizadas según las reglas del formalismo de operadores producto [29, 30].

En el caso de una señal PHIP-PASADENA, donde el parahidrógeno fue transferido a un sistema AX , el operador densidad inicial es el de la ec. 4.14,

$$\rho_{\text{PHIP}}(0) \propto 2I_1^z I_2^z. \quad (5.23)$$

Luego de un pulso de $(\pi/4)_y$, tenemos

$$\rho_{\text{PHIP}}(0^+) \propto (2I_1^x I_2^z + 2I_1^z I_2^x). \quad (5.24)$$

La primera evolución bajo \mathcal{H}_W^J resulta en,

$$\rho_{\text{PHIP}}(t_E/2) \propto (I_1^y + I_1^y) \sin(\pi J_{12} t_E/2) + (2I_1^x I_2^z + 2I_1^z I_2^x) \cos(\pi J_{12} t_E/2). \quad (5.25)$$

Aplicando el primer pulso de $(\pi)_x$ la ecuación anterior queda,

$$\rho_{\text{PHIP}}(t_E/2^+) \propto -(I_1^y + I_1^y) \sin(\pi J_{12} t_E/2) - (2I_1^x I_2^z + 2I_1^z I_2^x) \cos(\pi J_{12} t_E/2). \quad (5.26)$$

En este punto se puede apreciar la diferencia entre el sistema polarizado térmicamente y el PHIP. Vemos como ambos términos cambiaron de signo. El primer término, lineal en el operador de espín, cambia su signo como siempre y el segundo término, bilinear, también cambia el signo ya que I_k^z cambia e I_j^x conmuta con el pulso (ver vectores negros en Fig. 5.12).

Evolucionando el sistema hacia el primer eco con \mathcal{H}_W^J , el operador densidad queda,

$$\rho_{\text{PHIP}}(t_E) \propto -(I_1^y + I_1^y) \sin(\pi J_{12} t_E) - (2I_1^x I_2^z + 2I_1^z I_2^x) \cos(\pi J_{12} t_E), \quad (5.27)$$

donde la magnetización resultante es,

$$M_{\text{PHIP}}(t_E) \propto -i \sin(\pi J_{12} t_E), \quad (5.28)$$

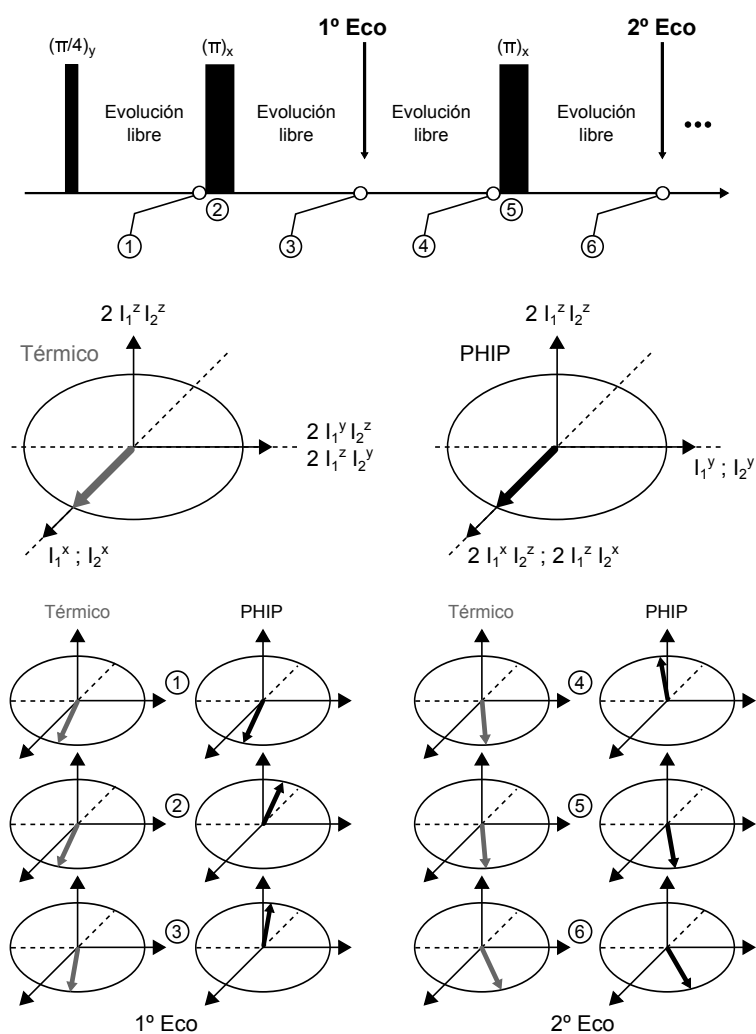


Figura 5.12: (Arriba) Esquema de la secuencia de pulsos. (Centro) Subespacios expandidos por el producto de los operadores de espín correspondientes al acoplamiento escalar; (Abajo) Evolución de un solo operador de espín durante la formación de dos ecos consecutivos, donde se representa la alteración de la fase en las señales PHIP.

Notar que el eco se formará 90° desplazado con respecto al caso térmico, es decir, en el canal imaginario, como es usual en experimentos PHIP de un solo pulso [37, 41].

Siguiendo con el cálculo, realizando una nueva evolución en un tiempo $t_E/2$ con \mathcal{H}_w^J seguida de un pulso $(\pi)_x$, el operador queda,

$$\rho_{\text{PHIP}}(3t_E/2) \propto +(I_1^y + I_1^y) \sin(\pi J_{12} 3t_E/2) + (2I_1^x I_2^z + 2I_1^x I_2^z) \cos(\pi J_{12} 3t_E/2). \quad (5.29)$$

Nuevamente, el efecto del pulso de refocalización es cambiar el signo global del operador (ver punto 5 de la Fig. 5.12). Finalmente, en el segundo eco el operador densidad será,

$$\rho_{\text{PHIP}}(2t_E) \propto +(I_1^y + I_1^y) \sin(\pi J_{12} 2t_E) + (2I_1^x I_2^z + 2I_1^x I_2^z) \cos(\pi J_{12} 2t_E), \quad (5.30)$$

con la correspondiente intensidad de la señal de la forma,

$$M_{\text{PHIP}}(2t_E) \propto +i \sin(\pi J_{12} 2t_E). \quad (5.31)$$

Por lo tanto, y siguiendo este mismo razonamiento para el n -ésimo eco de la secuencia, la magnetización resultante será

$$M_{\text{PHIP}}(nt_E) \propto i(-1)^n \sin(\pi J_{12} nt_E). \quad (5.32)$$

Esto impone un cambio de signo en los sucesivos ecos durante la secuencia, además de la modulación por el acoplamiento- J . La diferencia entre las señales térmicas y PHIP se vuelve más evidente si vemos la Fig. 5.13 (A), donde se muestran simulaciones numéricas de las intensidades de los ecos obtenidos con una CPMG en un sistema AX . El efecto par-impar entre los ecos está modulado por la evolución de acoplamiento- J .

Es posible encontrar una expresión analítica que explique el efecto del algoritmo de la Transformada Rápida de Fourier (FFT) sobre señales obtenidas mediante la adquisición del máximo de los ecos en un tren de pulsos.

La digitalización de una señal en el dominio temporal provee una serie de n números que representan un tiempo total de adquisición $T = n dw$. En la espectroscopía- J , este intervalo de muestreo dw está dado por el tiempo de eco t_E . Cuando se aplica la FFT a una serie de n datos se obtienen, las frecuencias representativas de la señal, siendo el valor máximo de frecuencia $\nu_M = 1/t_E$ con una resolución espectral $1/T$.

Asumimos ahora que se adquiere una señal continua $f(t)$, la cual se quiere discretizar en intervalos tiempo t_E . El efecto de discretización se puede realizar con la ayuda de un *peine*

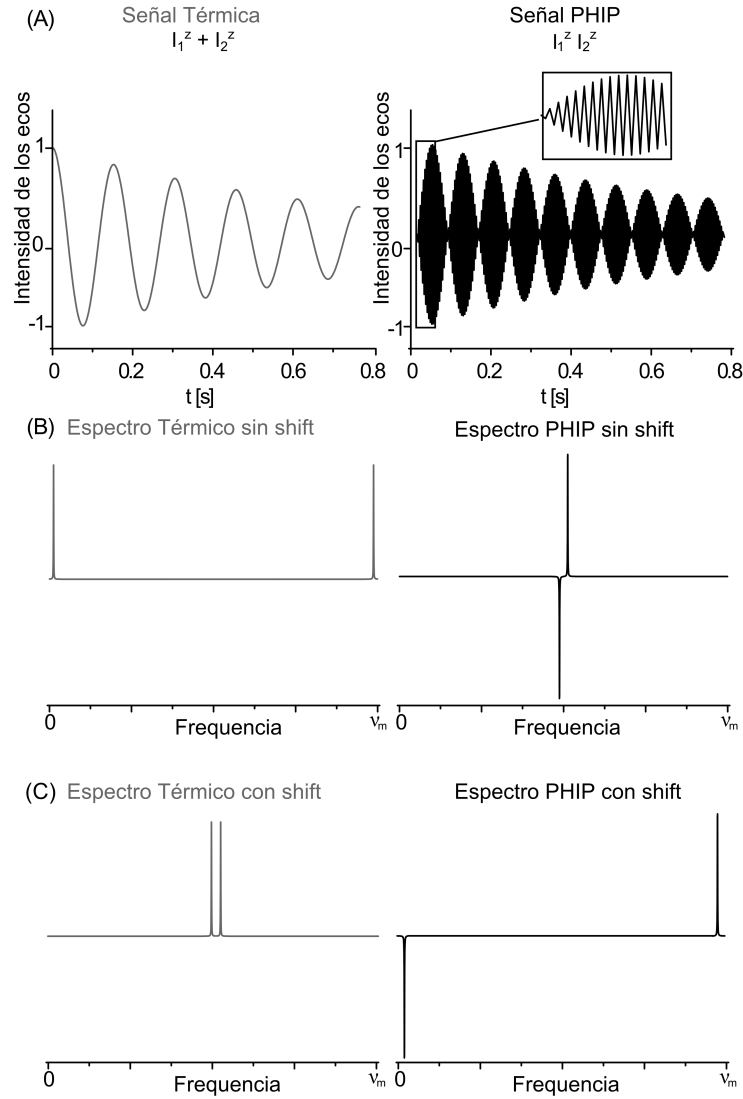


Figura 5.13: (A) Simulaciones de la evolución de la parte real de una señal térmica y PHIP durante una CPMG en un sistema *AX*. (B) Espectros obtenidos sin realizar el *shift* en la Transformada de Fourier. (C) Espectros obtenidos realizando el *shift* en la Transformada de Fourier.

de Dirac. Así la versión discreta de $f(t)$ se escribe como,

$$f_D(t) = f(t) \sum_{j=0}^{\infty} \delta(t - jt_E), \quad (5.33)$$

donde δ es la función Delta de Dirac. Entonces, la transformada de Fourier de esta función resulta en la función,

$$F_D(\nu) = F(\nu) \otimes \sum_{j=0}^{\infty} \delta\left(\nu - \frac{j}{t_E}\right) = \sum_{j=0}^{\infty} F\left(\nu - \frac{j}{t_E}\right), \quad (5.34)$$

donde \otimes denota la convolución entre ambas funciones. La respuesta en frecuencias consiste en una serie de replicas separadas en $1/t_E$, es decir, el ancho espectral. Por lo tanto, el tiempo de eco tiene que ser cuidadosamente ajustado de acuerdo al teorema de Niquist, para prevenir *aliasing*. Una herramienta común en cualquier software para procesar señales, sea o no de RMN, es el desplazamiento o *shift* del espectro en $n/2$ puntos y reasignar las frecuencias a un rango entre $-\nu_M/2$ y $+\nu_M/2 - 1$. Por ejemplo, en Matlab, la función para realizar una Transforma de Fourier se escribe como *fft* y para realizar el *shift* es *fftshift*. Si aplicamos una FFT sin el *shift* a una señal que proviene de un estado de espín con polarización térmica, el espectro- J será como el de la izquierda en la Fig. 5.13 (B), en cambio, si se realiza el *shift* el resultado es un espectro- J como el que se muestra en la Fig. 5.13 (C). Por otro lado, para el caso de señales PHIP, ocurre exactamente lo contrario, y el espectro- J sin el *shift* es el que mantiene la señal en el centro de la ventana espectral.

Si ahora consideramos señales PHIP como la de la ec. 5.32, podemos escribir la señal discretizada como,

$$f_D(t) = f(t) \sum_{j=0}^{\infty} (-1)^j \delta(t - jt_E), \quad (5.35)$$

la cual puede separarse en una parte par e impar como,

$$f_D(t) = f(t) \sum_{k=0}^{\infty} \delta(t - 2kt_E) - f(t) \sum_{k=0}^{\infty} \delta(t - (2k + 1)t_E). \quad (5.36)$$

Definiendo $\tau = t - t_E$, la expresión anterior se reescribe como,

$$f_D(t) = f(t) \sum_{k=0}^{\infty} \delta(t - 2kt_E) - f(\tau + t_E) \sum_{k=0}^{\infty} \delta(t - (2k + 1)t_E). \quad (5.37)$$

Usando el Teorema del *Shift* en la Transformada, es decir, $F[f(t + t_0)] = F(\nu)e^{-\nu t_0}$, la

ecuación 5.37 se convierte en,

$$F_D(\nu) = \sum_{k=0}^{\infty} F\left(\nu - 2\frac{k}{2t_E}\right) - e^{i\nu t_E} \sum_{k=0}^{\infty} F\left(\nu - \frac{k}{2t_E}\right) = (1 - e^{-i\nu t_E}) \sum_{k=0}^{\infty} F\left(\nu - \frac{k}{2t_E}\right). \quad (5.38)$$

Dado que $(k/2t_E) = (k/t_E) - (k/2t_E)$ llegamos a la expresión final,

$$F_D(\nu) = (1 - e^{-i\nu t_E}) \sum_{k=0}^{\infty} \left(F\left(\nu + \frac{k}{2t_E}\right) - \frac{k}{t_E} \right). \quad (5.39)$$

Comparando las expresiones 5.34 y 5.39, descartando el factor de fase, se puede ver que difieren en un desplazamiento en la frecuencia de $1/2t_E$, es decir, en la mitad del ancho espectral. Esto explica lo obtenido numéricamente en la Fig. 5.13 **(B)**, donde las líneas del espectro-*J* aparecen en el centro en la señal PHIP y en los bordes en la señal térmica. Esta separación natural provee un mecanismo para distinguir ambas señales y es la base de PhD-PHIP.

5.3.2. PhD-PHIP a campo alto

Los cálculos de la sección anterior fueron realizados para sistemas de espines aislados débilmente acoplados *AX*. Como se verá en la sección siguiente, es posible generalizar el método de PhD-PHIP para campos magnéticos bajos, donde los espines de la molécula se encuentran fuertemente acoplados.

Centrándonos en experimentos a campo alto, es posible probar experimentalmente del protocolo PhD-PHIP de manera simple. Para ello utilizó la señal PASADENA del 1-hexene mezclada físicamente con una señal térmica proveniente del Diclorometano (CH_2Cl_2), molécula que posee un solo pico justo en el centro de ambos picos PHIP del 1-hexene. En la Fig. 5.14 se aprecia la potencia del método y como, no solo se obtiene el mismo espectro de alta resolución de la Fig. 5.10, sino que también la señal térmica proveniente del CH_2Cl_2 se encuentra en los bordes del espectro-*J*.

El mismo efecto se observa si realizamos una mezcla de la molécula antes y después de reaccionar [50]. Esto es muy útil si se quiere monitorear una reacciones químicas en donde las señales PHIP y térmicas, originadas por la misma reacción, compiten de forma tal que no es posible aislar la reacción de las señales PHIP. Esta situación se muestra en la Fig. 5.15 para una muestra que consiste en una solución de 0.05 gr de 1-hexyne (educto), 0.1 gr de

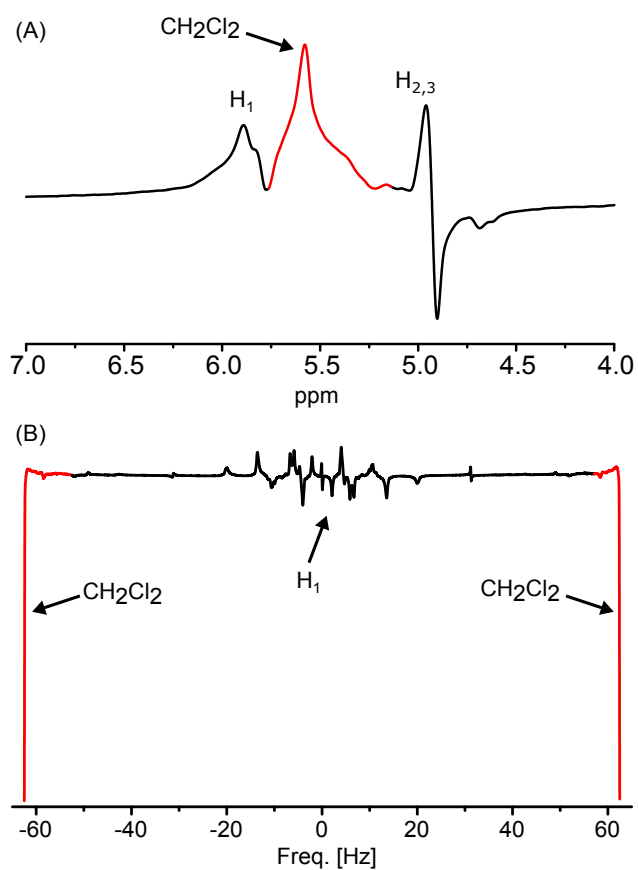


Figura 5.14: Experimento de la separación de la señal PHIP y térmica mezclando físicamente 1-Hexyne y Diclorometano utilizando el arreglo experimental de la Fig. 4.17 (A).

1-hexene (molécula producto en estado térmico adquirida comercialmente) 1.3 gr de acetona- d_6 y 0.01 gr de catalizador. En la Fig. 5.15 (A) se muestra un espectro usual y un espectro- J parcial sobre H_1 previos a la incorporación de pH_2 , donde la señal térmica proveniente del 1-hexene se encuentra en los bordes el espectro- J . Luego de cinco ciclos de burbujeo de pH_2 y medición se obtienen los espectros que se muestra en (B). Se observa que, mientras en un espectro usual la señal PHIP se encuentra claramente distorsionada y solapada con la señal térmica de 1-hexene, en el espectro- J parcial la señal PHIP aparece en el centro del espectro, libre de impurezas térmicas y similar a la de la Fig. 5.10. Mas aún, la señal térmica de 1-hexene permanece en las esquinas del espectro junto con la señal térmica recién reaccionada que ha relajado al estado térmico. Luego de veinte ciclos de burbujeo/medición, la señal PHIP en el espectro usual se encuentra completamente apantallada por la señal térmica y su intensidad es muy baja debido a la evaporación de la muestra (Fig. 5.15(C)). En este caso, el espectro- J muestra pocos cambios y toda la señal térmica se encuentra en los bordes, dejando nuevamente una señal PHIP limpia y de alta resolución.

Para probar la eficacia del método, se realizaron experimentos con moléculas mas complejas, donde la reactividad es mucho menor que en el 1-hexene y las señales térmicas naturalmente afectan a la señal PHIP. Para ello se utilizaron las moléculas biocompatibles (*BioMol1* y *BioMol2*) de la Fig. 4.16. Es importante destacar que, debido a la baja reactividad de estas moléculas, para obtener los espectros de la Fig. 4.19 y los espectros- J parciales de la Fig. 5.16 se utilizó el arreglo experimental de la Fig. 4.17 (B) con 92 % de gas enriquecido en pH_2 a 9.8 Bar y calentando la muestra a 60 °C en una atmósfera de N_2 a 6 Bar. Nuevamente, los espectros- J parciales muestran información relevante acerca de los acoplamiento- J de las moléculas, que es imposible de ver en un espectro usual (ver Fig. 4.19).

5.3.3. PhD-PHIP a campo bajo

La implementación de cualquier técnica de RMN a campo bajo siempre es bienvenida. A diferencia de los grandes y costosos equipos de RMN de campo alto, en los cuales se requieren materiales superconductores, los espectrómetros de campo bajo se caracterizan por ser portables y de bajo costo. Aún cuando la intensidad y resolución es notoriamente menor, es posible obtener información relevante mediante métodos de relajación y espectroscopía. Esto a llevado a su utilización en gran parte de la industria química, petrolera y alimenticia.

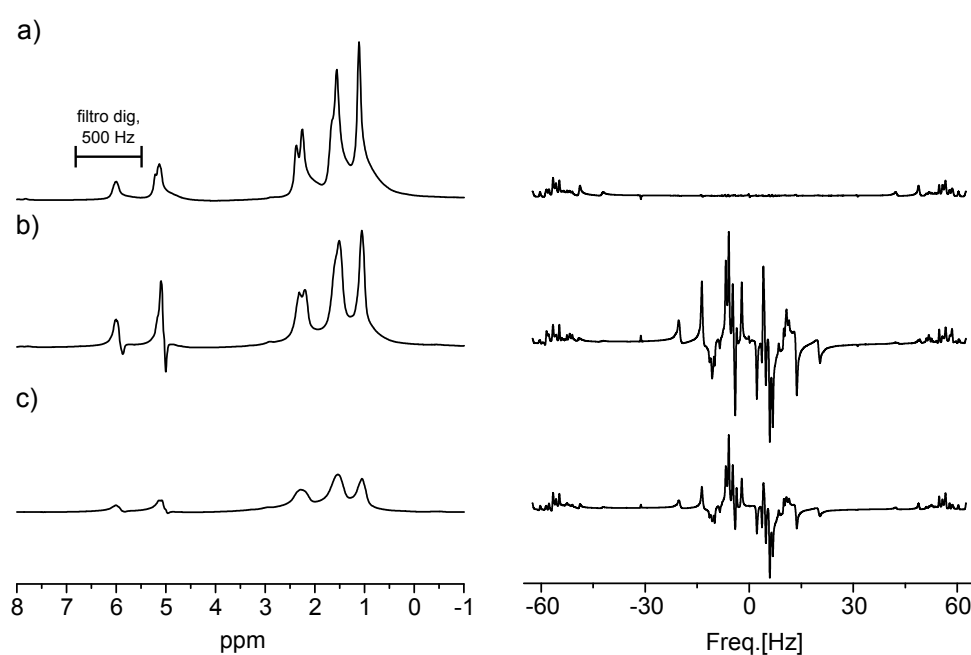


Figura 5.15: Experimento de la separación de la señal PHIP y térmica mezclando físicamente 1-hexyne y 1-hexene. **(A)** Espectros para 66 % 1-hexene y 33 % 1-hexyne. **(B)** Espectros luego de la hidrogenación con pH_2 . **(C)** Espectros luego de 20 ciclos de burbujeo y medición, donde gran parte de la muestra se ha evaporado y la mayor parte del 1-hexyne a reaccionado a 1-hexene, incrementando la proporción de 1-hexene.

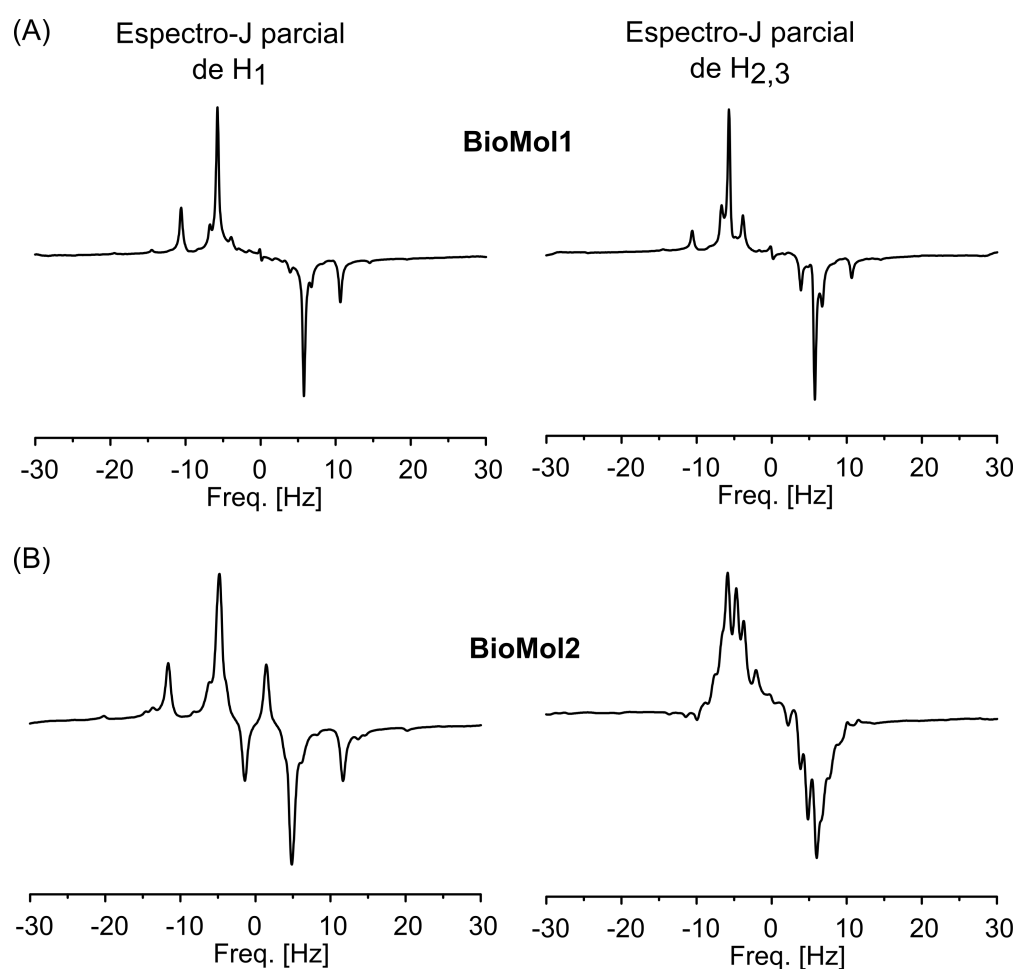


Figura 5.16: Espectros- J parciales de ambas Biomoléculas. Se utilizó un filtro digital de 500 Hz y un tiempo de eco $t_E = 8$ ms. Debido a la complejidad del sistema, no fue posible realizar simulaciones con un número acotado de espines. En el caso de la *BioMol2*, no solo existe transferencia de hiperpolarización a otros espines de la molécula, sino que también la hidrogenación del grupo carbonilo produce una señal PHIP que afecta directamente a la señal de los protones H_1 y $H_{2,3}$.

Como se mencionó anteriormente, si pensamos en utilizar la espectroscopia- J a campo bajo el primer problema que surge es la violación de la condición (i) de la sec. 5.2, es decir, el sistema de espines ya no está acoplado débilmente. De esta forma, como se aprecia en la columna derecha de la Fig. 5.5, el tiempo de eco jugará un papel importante en la forma del espectro. Sin embargo, aún con estas condiciones experimentales desfavorables, es posible aplicar el método de PhD-PHIP a campo bajo, es decir, realizar espectros espín-eco en PHIP. [36].

Recordando el Hamiltoniano para sistemas de espines fuertemente acoplados tenemos,

$$\mathcal{H}_{\text{strong}} = \sum_{i=1}^N 2\pi \nu_i I_i^z + \sum_{i<j}^N 2\pi J_{ij} \mathbf{I}_i \cdot \mathbf{I}_j, \quad (5.40)$$

donde el Hamiltoniano de acoplamiento- J no conmuta con el término de desplazamiento químico. Por lo tanto, la evolución del sistema debe calcularse con todo el Hamiltoniano $\mathcal{H}_{\text{strong}}$, lo que resultará en información del desplazamiento químico sobre los máximos de los ecos en la CPMG y una gran dependencia con el tiempo de eco, t_E [27]. Al final de la reacción química, el operador densidad no solo contiene términos de segundo orden, sino que también existirán términos de orden cero y primer orden, dependiendo del desplazamiento químico y la red de acoplamientos- J en la molécula. Realizar un cálculo analítico de estos sistemas resulta muy engorroso y, en general, imposible. Por lo tanto, el análisis para determinar la existencia de la separación entre las señales PHIP y térmicas en espectros espín-eco se realizó de forma numérica (ver sec. 3.1).

Consideremos primero el caso donde el sistema formado luego de la reacción química es un sistema de dos espines asilados fuertemente acoplados (H_1 y H_2), es decir un sistema AB . Las simulaciones fueron llevadas a cabo con las siguientes condiciones: $\nu_1 = 1$ ppm, $\nu_2 = 1.5$ ppm, $J_{12} = 7$ Hz, $B_0 = 0.45$ T (lo que corresponde a una frecuencia de Larmor para protones $\omega_0/2\pi = 19.86$ MHz) y un tiempo de eco $t_E = 15$ ms. El operador densidad resultante luego de la reacción es,

$$\begin{aligned} \rho_{AB}^{\text{PH}}(0) = & -1 \times I_1^z I_2^z + 0.4772 \times (I_1^z - I_2^z) \\ & - 0.3183 \times (I_1^x I_2^x + I_1^y I_2^y) \\ & + 0.0125 \times (I_1^x I_2^y + I_1^y I_2^x), \end{aligned} \quad (5.41)$$

lo que resulta en un espectro espín-eco como el de la Fig. 5.17 (**A**), donde se aprecia un solo

doblete en antifase en el centro de la ventana espectral, el cual es la marca característica del segundo orden longitudinal de espín ($I_1^z I_2^z$). Ahora, supongamos que inicialmente el sistema posee cantidades iguales de especies PHIP y térmicas, entonces el operador puede escribirse como: $\rho_{AB}^{PH}(0) + \rho_{AB}^{ter}(0)$. En este caso espectro espín-eco resultante será el de la Fig. 5.17 (B), donde se aprecia el doblete adicional enfase en los bordes de la ventana espectral correspondiente a las señales térmicas.

El siguiente paso en complejidad es agregar un espín mas luego de la reacción. Así, el sistema que se forma es un sistema de tres espines fuertemente acoplados, debido a la transferencia de los protones del pH_2 a un tercero (sistema *ABC* [29]), como se esquematiza en la Fig. 5.17 (C). En este caso, los valores utilizados para realizar la simulación fueron: $\nu_1 = 6.0\text{ppm}$, $\nu_2 = 5.8\text{ ppm}$, $\nu_3 = 6.25\text{ ppm}$, $J_{12} = 7\text{ Hz}$, $J_{13} = 10.2\text{ Hz}$, $J_{23} = 17.2\text{ Hz}$, $B_0 = 0.45\text{ T}$ y $t_E = 15\text{ ms}$; lo que resulta en un operador densidad de varios términos y puede ser reescrito como,

$$\begin{aligned} \rho_{ABC}^{PH}(0) = & \sum_{(i<j)=1}^3 \alpha_{ij} I_i^z I_j^z + \sum_{(i<j)=1}^3 \lambda_{ij} (I_i^x I_j^x + I_i^y I_j^y) \\ & + \sum_{i=1}^3 \beta_i I_i^z + \delta (I_1^z I_2^x I_3^x + I_1^z I_2^y I_3^y) + \epsilon (I_1^x I_2^z I_3^x + I_1^y I_2^z I_3^y), \end{aligned} \quad (5.42)$$

donde α_{ij} , β_i , λ_{ij} , δ y ϵ son constantes obtenidas en la simulación. El espectro espín-eco resultante se puede ver en la Fig. 5.17 (C), donde se aprecia, además del doblete en antifase característico de PHIP en el centro, la contribución a la señal en los bordes de la ventana espectral proveniente de los términos de alto orden de espín en el operador. En la Fig. 5.17 (D) se aprecia como esta contribución no puede ser separada de la señal térmica usual, donde se utilizó la misma fracción de operador PHIP (ec. 5.42) y de operador térmico en el estado inicial del sistema.

Esta es la mayor diferencia con un espectro-*J*, en el cual toda la información de las señales PHIP se encuentra en el centro de la ventana espectral, bien separada de las señales de los protones térmicamente polarizados. Como es de esperarse, a medida que el sistema de espines es mas grande, mas compleja será la estructura del operador resultante luego de la reacción química. Sin embargo, está claro que una fracción importante de las señales hiperpolarizadas se encontrará en el centro de la ventana espectral, mas aún, solo las señales PHIP se encontrarán en esta región, y por lo tanto es posible utilizar el protocolo PhD-PHIP

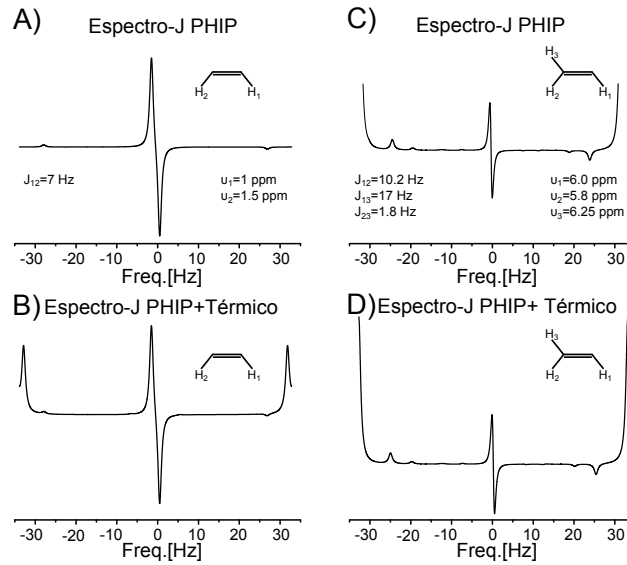


Figura 5.17: (A) Simulación de un espectro espín-eco usando un sistema AB a campo bajo. (B) Igual que (A) pero agregando un operador térmico al estado inicial PHIP de la ec. 5.41. (C) Simulación de un espectro espín-eco en un sistema ABC . (D) Igual que el anterior pero con el operador un térmico agregado a ρ_0^{ABC} .

a campos bajos.

La comprobación experimental se llevó a cabo en un espectrómetro Bruker Minispec mq20 con $B_0 = 0.45$ T, donde no solo el campo B_0 es altamente inhomogéneo (ancho de línea del orden de 200 Hz), sino que también los pulsos de r.f. presentan un gran inhomogeneidad, por lo que se tuvo especial recaudo en utilizar muestras lo mas pequeñas posibles. Las muestras consistieron en 1-hexene hiperpolarizado con 50 % de pH_2 utilizando el arreglo experimental (A) de la Fig. 4.17. Una vez incorporados a la muestra, los protones del pH_2 ocupan sitios químicamente diferentes e interactúan con otros tres protones en la molécula, los protones H_3 , H_4 y H_5 esquematizados en la Fig. 5.10 (A). Es importante destacar que todos los protones están separados aproximadamente 5 ppm, que representa un rango de 100 Hz a la intensidad de campo del espectrómetro y esto produce un solo pico de resonancia para toda la muestra (ver Fig. 5.18).

Como la diferencia de desplazamiento químico relativa a los acoplamientos entre los protones H_1^* , H_2^* , H_3 y H_{4-5} son:

- $|\nu_1^* - \nu_2^*|/J_{12} \sim 1.7$
- $|\nu_1^* - \nu_3|/J_{13} \sim 1.0$

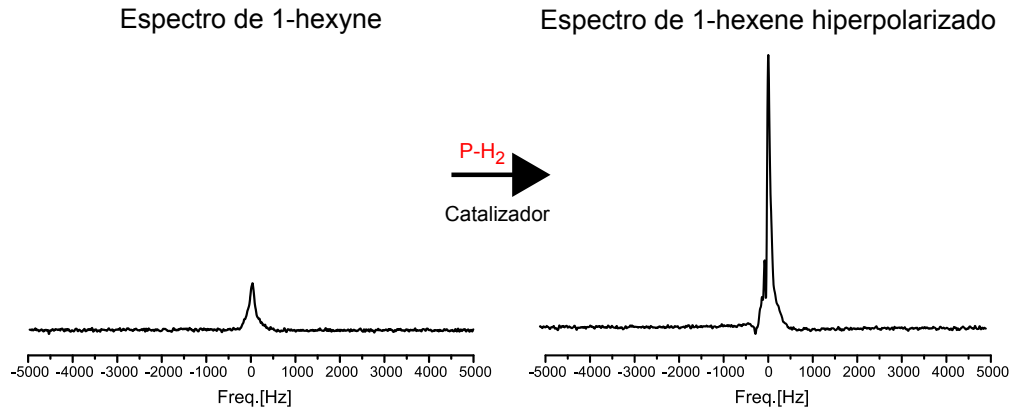


Figura 5.18: Espectros antes y después de la reacción de 1-hexyne a 1-hexene con pH_2 a campo bajo.

- $|\nu_2^* - \nu_3|/J_{23} \sim 0.36$
- $|\nu_1^* - \nu_4|/J_{14(5)} \sim 10.5$
- $|\nu_2^* - \nu_4|/J_{24(5)} \sim 48$

es posible descartar la transferencia de hiperpolarización a H_{4-5} . Así, la señal térmica total, la cual interfiere con la señal PHIP a la hora de la detección (ver Fig. 5.18), proviene de los nueve protones térmicamente polarizados de la molécula producto y de los diez de las moléculas 1-hexyne que no reaccionaron todavía.

Por lo tanto, resulta natural la utilización del protocolo de PhD-PHIP en este sistema. En la Fig. 5.19 se muestran los espectros espín-eco antes (**A**) y después (**B**) de la hidrogenación con pH_2 . Como se había predicho, las señales térmicas están dispuestas naturalmente en los bordes de la ventana espectral mientras que la señal PHIP aparece como un gran pico en antifase en el centro. Es importante destacar que debido a las imperfecciones de los pulsos de π , se observa una pequeña señal en el centro de la ventana espectral en (**A**), la cual interfiere con la señal PHIP en (**B**). Los espectros se muestran en la misma escala vertical, esto produce la visualización de nuevos picos en la línea de base del espectro espín-eco hiperpolarizado por encima del nivel del ruido. La simulación en (**C**) fue realizada utilizando un sistema de 7 espines acoplados. La misma provee un espectro similar al de (**B**), pero con diferente forma en la línea de base, esto nos dice que las señales provienen de señales de mayor orden de espín y que, incluso con un sistema de 7 espines acoplados, no es posible simular a la perfección el sistema. Debido a que estamos lidiando con un sistema de espines fuertemente

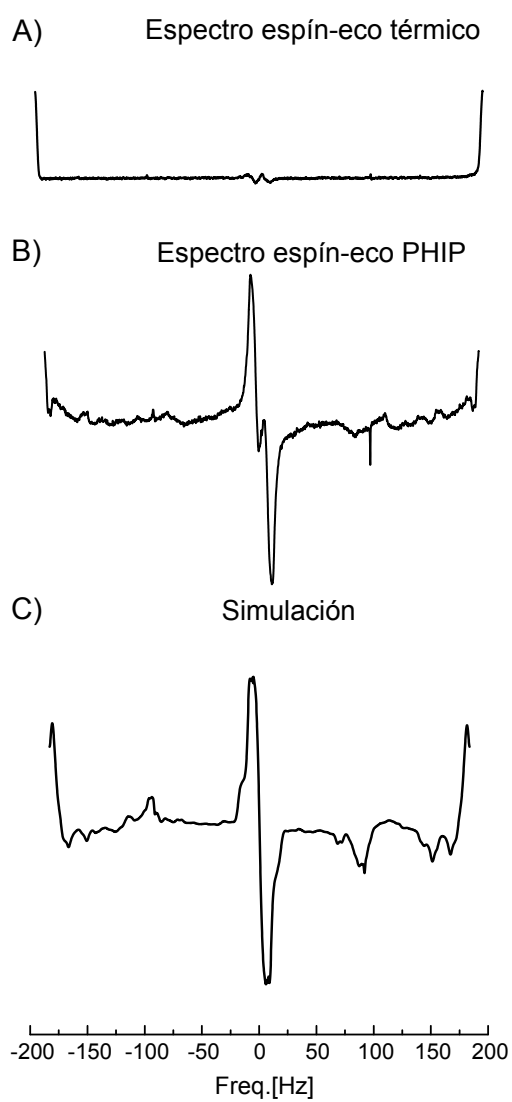


Figura 5.19: (A) Espectro espín-eco antes de la hidrogenación y después (B) de la hidrogenación con pH_2 con $t_E = 15 \text{ ms}$ sin filtro digital. (C) Simulación del espectro espín-eco utilizando un sistema de 7 espines acoplados.

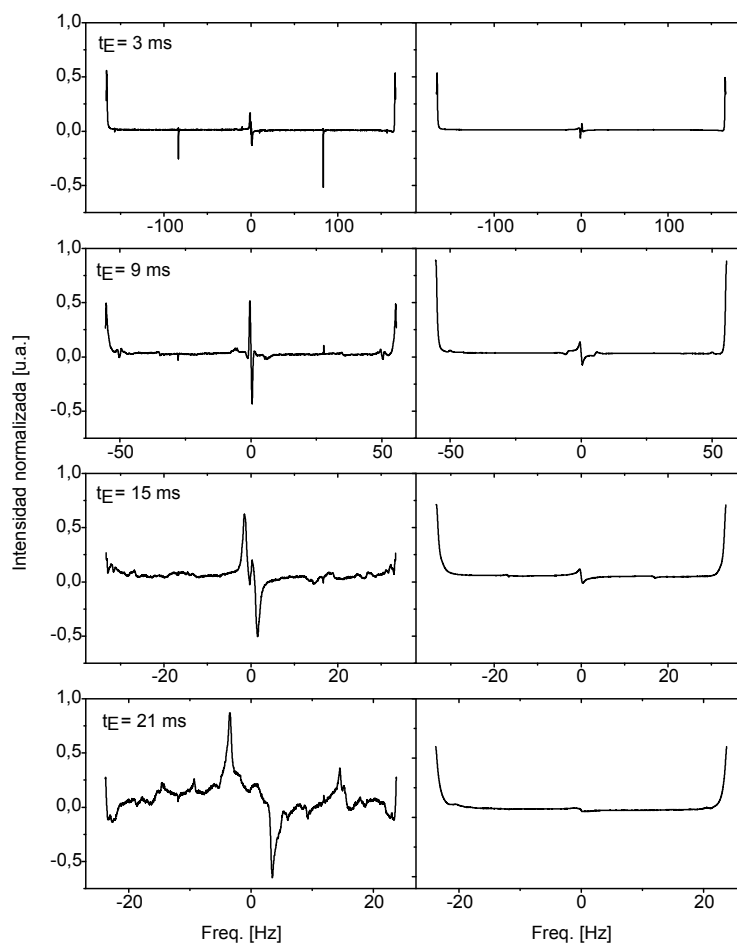


Figura 5.20: Espectros espín-eco para diferentes tiempos de eco. Para t_E cortos la evolución con el acoplamiento- J se perturba debido a los pulsos de r.f. **Izquierda** Espectros espín-eco de una fracción 1-hexene hiperpolarizado en 1-hexyne térmico. **Derecha** Espectros espín-eco de 1-hexene con polarización térmica diluido en acetona- d_6 .

acoplados, las intensidades relativas de los picos en antifase con respecto a los picos en fase que aparecen en los bordes dependen fuertemente del tiempo de eco que se utilice.

La Fig. 5.20 muestra el efecto del tiempo de eco en este tipo de experimentos. A la derecha se muestran los espectro espín-eco de una muestra térmicamente polarizada de 1-hexene adquirida comercialmente. Todos los espectros fueron normalizados al valor máximo en el espectro obtenido para $t_E = 21$ ms. Para la molécula producto, el área de los espectros aumenta a medida que el tiempo de eco se hace mas pequeño, lo cual es consistente con el hecho que para tiempos de eco cortos el primer eco digitalizado tiene mayor intensidad. En el caso de la muestra hiperpolarizada, para tiempos cortos ($t_E = 3$ ms), el doblete en antifase a frecuencia cero es del mismo orden de magnitud que el térmico y esta mezclado con el error

en los pulsos de r.f. Si se aumenta el tiempo de eco ($t_E = 9$ ms), la señal hiperpolarizada del centro excede los *artifacts* generados por los pulsos de r.f. y, una interferencia destructiva debido a los términos de alto orden en el operador densidad, genera una señal pequeña en los bordes del la ventana espectral. Para tiempos de eco aún mayores ($t_E = 15$ ms), el doblete en antifase PHIP mantiene su intensidad pero aparece con mayor resolución. De nuevo, las señales térmicas se cancelan en los bordes del espectro. Como se mencionó anteriormente, aparecen muchas señales sobre la línea de base del espectro que exceden el nivel de ruido del mismo. Este efecto se aprecia en mayor medida para tiempos de eco mas largos ($t_E = 21$ ms), donde estos *artifacts* son del orden de las señal PHIP en el centro del espectro. Esta figura nos muestra que una descripción total del sistema es extremadamente complicada y requiere realizar simulaciones numéricas con los doce espines presentes en la molécula producto. Aún así, podemos concluir que la existencia del doblete en antifase en el centro del espectro es un claro indicador de la presencia de señales hiperpolarizadas libre de impurezas térmicas y puede ser utilizada, como se muestra en la Fig. 5.21, para monitorear reacciones químicas en tiempo real de manera muy simple. Una elección correcta del tiempo de eco depende del sistema particular que se este estudiando y puede ser determinado comparando el resultado obtenido en la molécula producto como se mostró antes. Para este sistema y campo magnético en particular, $t_E = 15$ ms es una opción razonable a la hora de observar señal PHIP utilizando el protocolo PhD-PHIP.

Para realizar el experimento se colocó la muestra dentro del espectrómetro antes de la reacción durante unos 15 min para alcanzar el equilibrio térmico. Luego se burbujeó pH_2 durante 20 s y se esperó 5 s, antes de realizar la secuencia de pulsos, para evitar la medición de burbujas de gas dentro de la misma. Los resultados de este experimento se muestra en la Fig. 5.21, donde la variable t_r denota el lapso de tiempo desde que la reacción comenzó. Las intensidades fueron obtenidas mediante la integración de cada espectro en el rango que se muestra dentro de la misma figura, cambiando el signo del pico negativo para evitar la cancelación en la integral. El punto que se indica como **1**, corresponde al estado inicial antes del primer burbujeo. Una vez que se comienza la incorporación del gas, es necesario esperar cierto tiempo para que el catalizador se active y comience la hidrogenación de a pares que produce señal PHIP. Luego de dos ciclos de burbujeo/medición, la señal PHIP aparece y su intensidad rápidamente se incrementa al máximo (punto **2**). En este punto, el burbujeo

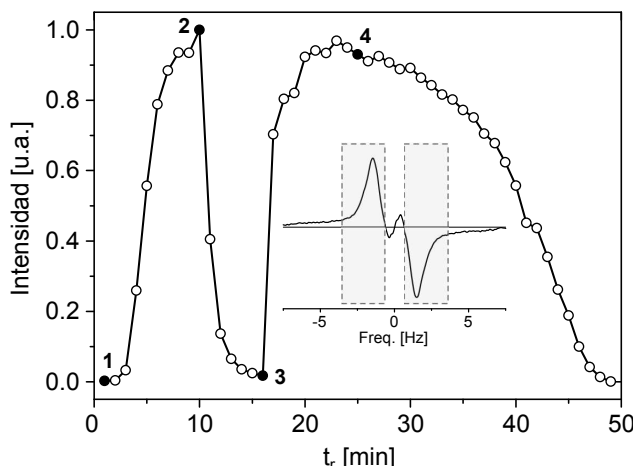


Figura 5.21: Reacción de 1-hexyne a 1-hexene monitoreada con PhD-PHIP en un campo $B_0 = 0.45$ T. Ver descripción en el texto.

fue interrumpido, pero no las adquisiciones de los espectro, de esta forma se muestra que la intensidades adquiridas están realmente relacionadas con la reacción de la señal PHIP, es decir, para mostrar el control que se tiene sobre la reacción. Cinco espectros espín-eco se adquirieron, donde se observa la intensidad decreciente de los mismo hasta llegar al punto **3** (espectro térmico). Finalmente se incorpora nuevamente pH_2 y se continúa con la reacción (punto **4**). En este punto, la señal representa un $\sim 90\%$ de la intensidad máxima obtenida, ya que parte del 1-hexyne ha reaccionado en 1-hexene entre los puntos **2** y **3**. Luego de 50 minutos de comenzado el experimento, la reacción termina cuando no hay más educto en la muestra para reaccionar y por lo tanto la parte central del espectro posee intensidad cero. La evaporación juega un papel importante en la última etapa de la reacción, ya que se observa un rápido decaimiento en la señal PHIP luego de los 35 minutos de experimento.

Este simple experimento muestra que PhD-PHIP es una herramienta extremadamente sensible para monitorear reacciones químicas a campo bajo, incluso con las altas inhomogeneidades presentes en este tipo de espectrómetros. Mas aún, la posibilidad de detectar señales hiperpolarización en equipos de RMN portátiles y de bajo costo, como es el caso del Bruker Minispec mq20, abre nuevas ramas de investigación dentro del área de PHIP.

Es importante destacar el hecho que todos los espectros, ya sean a campo bajo o alto, fueron realizados con una sola adquisición. Para los experimentos con señales PHIP este hecho es muy relevante, ya que el promedio de varias mediciones sobre la misma señal es prácticamente imposible debido a que la señal va cambiando con el tiempo. Esta imposibili-

dad proviene no solo de que el sistema se encuentra en un estado meta-estable sino que, aún cuando se incorpora pH_2 antes de cada medición, la cantidad de moléculas reaccionadas, que en promedio darán la señal PHIP, es diferente. Si bien es posible obtener un grado mayor de control sobre la reacción si utilizamos el arreglo experimental de la Fig. 4.17 (B), siempre existirá una curva de reacción (ver Fig. 5.21 y Fig. 4.18), la cual muestra el cambio de la señal en función del tiempo a medida que la molécula educto va reaccionado con el pH_2 .

5.3.4. PhD-PHIP en Gases

Ahora centremos nuestra atención en analizar la posibilidad de aplicar PhD-PHIP al estudio de gases hiperpolarizados en campo alto [60]. En este caso, solo se realizaron simulaciones y los experimentos se realizarán en trabajos futuros, como parte de la tesis doctoral del Lic. Leonel Garro Linck. Utilizando gas propano hiperpolarizado o propano HP, molécula mas popular en este tipo de experimentos [61], se realizaron simulaciones de un espectro de propano con un operador densidad térmico y PHIP utilizando los siete espines de la molécula. El sistema de espines a campo alto ($B_0 = 7$ T) se comporta mas o menos como un sistema AX, por lo tanto, podemos decir que los espectros obtenidos utilizando una CPMG corresponden a espectros-*J*.

En la Fig. 5.22 (A) se muestra la reacción química de propeno a propano cuando se incorpora pH_2 , donde el protón H_{2A} pasa a formar parte uno de los grupos Metilo y el H_{1X} forma el Metileno. En la RMN de estado gaseoso, la difusión juega un rol importante en el ancho de línea del espectro, ya que las moléculas pueden difundir grandes distancias durante la adquisición de la señal y esto produce una acumulación de fase sobre el volumen de medición. En el espectro de alta resolución ($lw = 1$ Hz) de la Fig. 5.22 (B) se aprecian las estructuras internas de cada pico debido al acoplamiento entre los espines. En el espectro térmico se ve como el protón H_{2A} experimenta un desdoblamiento en un triplete debido al acoplamiento con los protones H_{1X} y H_5 , mientras que el acoplamiento de H_{1X} con los 6 protones (H_{2A} , H_3 , H_4 , H_6 , H_7 y H_8) produce una estructura interna de 7 picos. De manera similar ocurre con el espectro PHIP, solo que además se aprecian las señales en antifase características de los términos de segundo orden de espín. Los resultados experimentales encontrados en la literatura [46, 61–64] corresponden a espectros similares a los de la Fig. 5.22 (C), donde el ancho de línea es del orden de 20 Hz. Claramente, no solo la intensidad del

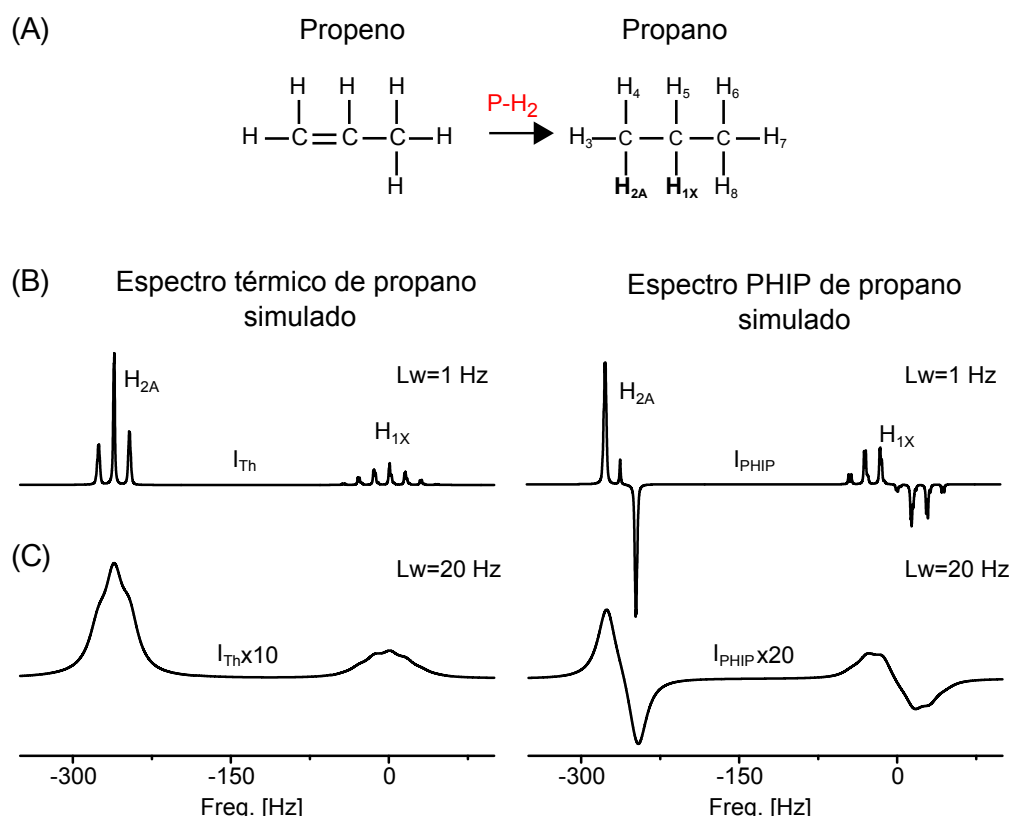


Figura 5.22: (A) Esquema de la hidrogenación con pH_2 del propeno. Existen solo dos posiciones de desplazamiento químico ($\nu_1 = 1.336$ ppm y $\nu_2 = 0.899$ ppm) y todos los espines están acoplados con una constante $J = 7.4$ Hz. (B) Espectro de RMN simulados para muestras de propano polarizada térmicamente y PHIP con un ancho de línea $lw = 1$ Hz. (C) Influencia del ensanchamiento de la línea en los espectros térmicos y PHIP. Se observa una disminución en la intensidad del espectro comparada con (B), la cual se acentúa cuando la señales proviene de un sistema PHIP.

espectro es mucho menor (aprox. un orden de magnitud), sino que la información sobre los acoplamientos- J se pierde y solo aprecian dos picos. Mas aún, en el caso del espectro PHIP, la intensidad es dos veces menor que la intensidad térmica, esto ratifica lo dicho anteriormente cuando se analizó el efecto de la inhomogeneidad de B_0 sobre señales PHIP, ver por ejemplo Fig. 3.3.

Para analizar el método de PhD-PHIP en gases es necesario considerar el efecto que tiene la difusión sobre la adquisición de un eco. El caso extremo de este efecto se observa en la medición 3He , en el cual el alto coeficiente de difusión elimina casi por completo al eco [65]. En el caso del propano, en una aproximación simple, podemos considerar a un gradiente

local lineal g como responsable de los anchos de línea observados, es decir, para $lw = 20$ Hz en un tubo de RMN de 10 mm, se satisface

$$\frac{\gamma}{2\pi}g = \frac{20\text{Hz}}{0.01\text{m}}. \quad (5.43)$$

Sabemos que el decaimiento de una señal proveniente de una CPMG no solo depende del tiempo de relajación T_2 , sino también del coeficiente de difusión D y el gradiente g [66], es decir,

$$I(g, nt_E) = I_0 e^{-\frac{nt_E}{T_2}} e^{-\frac{1}{3}\left(\frac{\gamma}{2\pi}gnt_E\right)^2 D nt_E}. \quad (5.44)$$

Es posible definir un tiempo de decaimiento efectivo,

$$\frac{1}{T_{2,eff}} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{3}D\left(\frac{\gamma}{2\pi}gt_e\right)^2, \quad (5.45)$$

donde, para gases del rango molar del propano, la constante de difusión libre es $D \sim 10^{-6} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$. Para un valor de $T_2 = 2$ s y un tiempo de eco $t_E = 50$ ms, el valor que se obtiene es de $T_{2,eff} = 1.97$ s, lo que es un cambio menor al 1 %. Por lo tanto, no existirá una pérdida importante de resolución en el espectro-*J*. Variando el tiempo de eco entre 1 ms y 100 ms, el tiempo de relajación efectivo solo cambia entre un 0.0004 % y 45 % respectivamente. Podemos concluir, por lo menos de manera teórica, que es posible obtener un ancho de línea menor a 0.2 Hz en gases hiperpolarizados libres si utilizamos PhD-PHIP.

Si el gas se encuentra embebido en un ambiente poroso, el tiempo de relajación será considerablemente menor al de un gas libre debido a las interacciones con la superficie [66]. Se han reportado anchos de línea de 15 Hz para gases confinados en medios catalíticos [46], esto resulta, tomando un valor estimado de $T_2 = 200$ ms, en un espectro-*J* con un ancho de línea de aproximadamente 1 Hz. En este caso, se define un coeficiente de difusión efectivo, mucho menor al coeficiente de difusión libre D , el cual depende fuertemente del tamaño de la cavidad, la presión, temperatura, ect. [67]. Sin embargo, aún en este tipo de sistemas mas complejos donde el T_2 es de unos pocos cientos de milisegundos, PhD-PHIP promete ser una herramienta importante en el estudio de gases hiperpolarizados.

En la Fig. 5.23 se muestran las simulaciones de los espectros-*J* térmicos (Izquierda) y PHIP (Derecha) que fueron realizadas utilizando los ocho espines acoplados de la molécula para un tiempo de eco $t_E = 8$ ms y un decaimiento efectivo de 200 ms. En (A) se simuló el espectro-*J* adquirieron ambos picos a la vez para hacer énfasis en el uso del filtro digital, ya

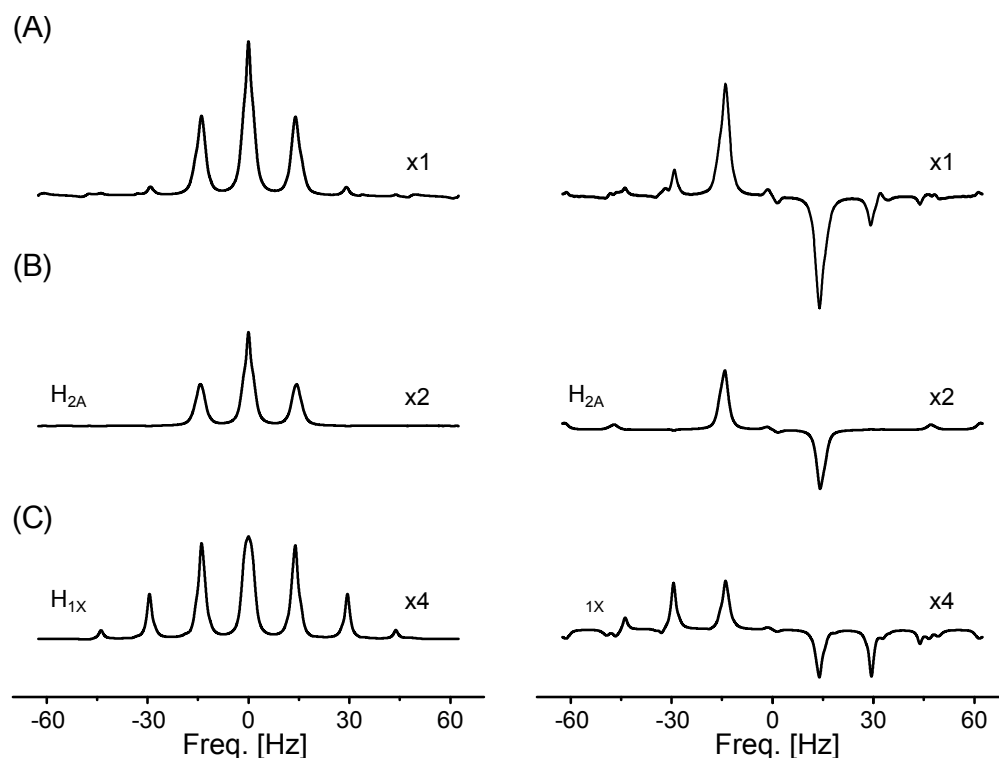


Figura 5.23: Simulaciones de espectros- J en propano. Columna izquierda: Térmicos. Columna derecha: PHIP. **(A)** Espectros- J de ambos picos, la falta de desplazamiento químico induce al colapso de las líneas, lo que resulta en una pérdida de información. **(B)** Espectros- J parciales correspondiente al grupo CH_3 . **(C)** Espectros- J parciales correspondiente al grupo CH_3 . Notar que todos los gráficos están normalizados a los espectros- J térmicos y PHIP respectivamente.

que aún cuando se obtiene un espectro de alta resolución, las líneas del mismo se encuentran colapsadas y resulta difícil analizarlo. Este efecto desaparece en los espectros- J parciales de **(B)** y **(C)**, donde, tanto en las señales térmicas como en las PHIP, las simulaciones muestran una concordancia perfecta con los espectros simulados de alta resolución de la Fig. 5.22.

Capítulo 6

Conclusión y perspectivas

En este trabajo se desarrolló la técnica PhD-PHIP para obtener espectros de RMN hiperpolarizados de alta resolución libre de impurezas térmicas. El desarrollo incluyó todas las etapas necesarias para validar la técnica. Desde el armado de diferentes arreglos experimentales para realizar las reacciones químicas, pasando por los experimentos de RMN ratificándolos con simulaciones numéricas, hasta un desarrollo analítico de la dinámica de espín pertinente.

Se publicaron cuatro trabajos y un capítulo de un libro. El primer trabajo se basó en la obtención de espectros de alta resolución de señales PHIP [28], mientras que en el segundo [49] se mostró como el método es capaz de separar las señales PHIP y térmicas con el beneficio de poder adquirir espectros de alta resolución, de aquí provino el protocolo PhD-PHIP. En la tercera publicación [50], se probó la robustez del método cuando se tiene poca hiperpolarización y gran parte de la señal se encuentra apantallada por las señales térmicas. Finalmente, se demostró que PhD-PHIP funciona a campos bajos [36], donde la teoría no está aún cerrada debido a la complejidad que introducen los acoplamientos fuertes. Sin embargo, se mostró que es una herramienta muy útil para el monitoreo de reacciones químicas.

Parte del trabajo se realizó en Alemania gracias a una beca de la Fundación Bunge y Born. La estadía de tres meses permitió realizar mediciones más precisas y probar la técnica en moléculas más complejas con utilidad en la medicina y la química. Este trabajo quedó enmarcado en la tesis doctoral del Lic. Manuel Braun del MPIP-Mainz y se estima que a principio del 2018 los resultados de los experimentos en curso podrían ser publicados.

Por último, se sentaron las bases teóricas para utilizar el método en gases hiperpolarizados

[60], trabajo que se continuará de forma experimental en la tesis doctoral del Lic. Garro y se planea utilizar la técnica en el estudio de materiales porosos para la determinación de la relación superficie/volumen e interconectividad de los poros, así como también para realizar imágenes rápidas por RMN.

Apéndice A

Generador de parahidrógeno y oxidación del catalizador

Tanto el diseño como la construcción del arreglo experimental para obtener parahidrógeno fueron realizadas enteramente en el laboratorio. En la Fig. A.1 (A) se muestra una foto del arreglo experimental sin el reservorio de nitrógeno líquido en el cual se sumerge el tubo de acero inoxidable. Dentro del mismo se encuentra una mezcla de carbón activado y óxido de hierro en polvo que sirve como catalizador para la conversión orto/para. Se colocaron filtros especiales para detener el avance de las partículas sin obstruir el paso del gas hidrógeno. Estos filtros son sumamente importantes ya que evitan la contaminación de las líneas y del cilindro de almacenamiento del parahidrógeno con las partículas paramagnéticas (ver Fig. A.1 (B)).

Como se mencionó anteriormente, el catalizador es sumamente sensible a una atmósfera con presencia de oxígeno, mas aún en estado sólido (polvo), que es la forma en la que comercialmente se adquiere. Por esa razón, se utilizó una cámara en la que se saturó el ambiente con un flujo constante de gas nitrógeno durante todo el proceso de preparación de la muestra (ver Fig. A.1 (C)). Una vez disuelto en acetona, la oxidación del catalizador es mucho mas lenta (un par de horas) y es posible realizar experimentos dentro del espectrómetro sin necesidad de aislarla del exterior, por ejemplo para realizar experimentos PASADENA con burbujeo a presión atmosférica. Por supuesto que para experimentos en los cuales se requirió un mayor grado de hiperpolarización y/o control, fue necesario disminuir al máximo la presencia de oxígeno durante todo el proceso. Para ello se utilizó el sistema de tubos de teflón

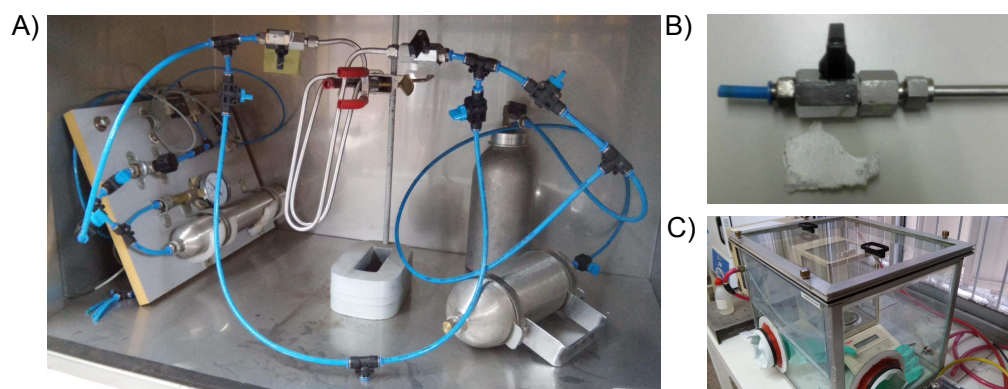


Figura A.1: (A) Arreglo experimental utilizado para la obtención de parahidrógeno. (B) Filtro utilizado a la salida y entrada del gas hidrógeno. (C) Cámara de atmósfera controlada con flujo constante de nitrógeno en donde se realizaron las muestras.

permeables explicado en la sección 4.2 y las muestras se realizaron dentro de una cámara de guantes (glovebox) con atmósfera de argón.

Bibliografía

- [1] M. A. Bouchiat, T. R. Carver, and C. M. Varnum. Nuclear Polarization in He3 Gas Induced by Optical Pumping and Dipolar Exchange. *Phys. Rev. Lett.*, 5(8):373–375, October 1960.
- [2] A. Ben-Amar Baranga, S. Appelt, C. J. Erickson, A. R. Young, and W. Happer. Alkali-metal-atom polarization imaging in high-pressure optical-pumping cells. *Phys. Rev. A*, 58(3):2282–2294, September 1998.
- [3] F. D. Colegrove, L. D. Schearer, and G. K. Walters. Polarization of He3 Gas by Optical Pumping. *Phys. Rev.*, 132(6):2561–2572, December 1963.
- [4] E. Stoltz, M. Meyerhoff, N. Bigelow, M. Leduc, P. J. Nacher, and G. Tastevin. High nuclear polarization in ^3He and ^3He - ^4He gas mixtures by optical pumping with a laser diode. *Appl. Phys. B Laser Opt.*, 63(6):629–633, 1996.
- [5] A. Abragam and M. Goldman. Principles of dynamic nuclear polarisation. *Reports on Prog. Phys.*, 41(3):395, 1978.
- [6] K.H. Hausser and D. Stehlik. Dynamic Nuclear Polarization in Liquids. In *Advances in Magnetic and Optical Resonance*, volume 3, pages 79–139. Elsevier, 1968.
- [7] Jan H. Ardenkjaer-Larsen, Björn Fridlund, Andreas Gram, Georg Hansson, Lennart Hansson, Mathilde H. Lerche, Rolf Servin, Mikkel Thaning, and Klaes Golman. Increase in signal-to-noise ratio of $>10,000$ times in liquid-state NMR. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100(18):10158–10163, September 2003.
- [8] Ronald G. Lawler. Chemically induced dynamic nuclear polarization. *J. Am. Chem. Soc.*, 89(21):5519–5521, October 1967.

- [9] Joachim Bargon. The Discovery of Chemically Induced Dynamic Polarization (CIDNP). *Helvetica Chimica Acta*, 89(10):2082–2102, October 2006.
- [10] C. Russell Bowers and Daniel P. Weitekamp. Transformation of Symmetrization Order to Nuclear-Spin Magnetization by Chemical Reaction and Nuclear Magnetic Resonance. *Phys. Rev. Lett.*, 57(21):2645–2648, November 1986.
- [11] Michael G. Pravica and Daniel P. Weitekamp. Net NMR alignment by adiabatic transport of parahydrogen addition products to high magnetic field. *Chem. Phys. Lett.*, 145(4):255–258, April 1988.
- [12] Thomas C. Eisenschmid, Rein U. Kirss, Paul P. Deutsch, Sven I. Hommeltoft, Richard Eisenberg, Joachim Bargon, Ronald G. Lawler, and Alan L. Balch. Para hydrogen induced polarization in hydrogenation reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, 109(26):8089–8091, December 1987.
- [13] C. Russell Bowers and D. P. Weitekamp. Parahydrogen and synthesis allow dramatically enhanced nuclear alignment. *J. Am. Chem. Soc.*, 109(18):5541–5542, September 1987.
- [14] E. J. R. van Beek, J. Schmiedeskamp, J. M. Wild, M. N. J. Paley, F. Filbir, S. Fichele, F. Knitz, G. H. Mills, N. Woodhouse, A. Swift, W. Heil, M. Wolf, and E. Otten. Hyperpolarized 3-helium MR imaging of the lungs: testing the concept of a central production facility. *Eur. Radiol.*, 13(12):2583–2586, December 2003.
- [15] Rodolfo H. Acosta, Peter Blümner, Kerstin Münnemann, and Hans-Wolfgang Spiess. Mixture and dissolution of laser polarized noble gases: Spectroscopic and imaging applications. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 66:40–69, October 2012.
- [16] M. S. Albert, G. D. Cates, B. Driehuys, W. Happer, B. Saam, C. S. Springer, and A. Wishnia. Biological magnetic resonance imaging using laser-polarized ^{129}Xe . *Nat.*, 370(6486):199–201, July 1994.
- [17] Yulin V. Chang, James D. Quirk, Iulian C. Ruset, Jeffrey J. Atkinson, F. William Hersman, and Jason C. Woods. Quantification of human lung structure and physiology using hyperpolarized ^{129}Xe . *Magn Reson. Med*, 71(1):339–344, January 2014.

- [18] Mathias Haake, Johannes Natterer, and Joachim Bargon. Efficient NMR Pulse Sequences to Transfer the Parahydrogen-Induced Polarization to Hetero Nuclei. *J. Am. Chem. Soc.*, 118(36):8688–8691, January 1996.
- [19] Helmut Sengstschmid, Ray Freeman, Jens Barkemeyer, and Joachim Bargon. A New Excitation Sequence to Observe the PASADENA Effect. *J. Magn. Reson. Ser. A*, 120(2):249–257, June 1996.
- [20] Haukur Jóhannesson, Oskar Axelsson, and Magnus Karlsson. Transfer of para-hydrogen spin order into polarization by diabatic field cycling. *Comptes Rendus Physique*, 5(3):315–324, April 2004.
- [21] Konstantin L. Ivanov, Alexandra V. Yurkovskaya, and Hans-Martin Vieth. Coherent transfer of hyperpolarization in coupled spin systems at variable magnetic field. *J. Chem. Phys.*, 128(15):154701–154701–13, April 2008.
- [22] L. Buljubasich, M.B. Franzoni, H.W. Spiess, and K. Münnemann. Level anti-crossings in ParaHydrogen Induced Polarization experiments with Cs-symmetric molecules. *J. Magn. Reson.*, 219(0):33–40, June 2012.
- [23] M. S. Anwar, D. Blazina, H. A. Carteret, S. B. Duckett, T. K. Halstead, J. A. Jones, C. M. Kozak, and R. J. K. Taylor. Preparing High Purity Initial States for Nuclear Magnetic Resonance Quantum Computing. *Phys. Rev. Lett.*, 93(4), July 2004.
- [24] M. S. Anwar, L. Xiao, A. J. Short, J. A. Jones, D. Blazina, S. B. Duckett, and H. A. Carteret. Practical implementations of twirl operations. *Phys. Rev. A*, 71(3), March 2005.
- [25] H.Y. Carr and E.M. Purcell. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Phys. Rev.*, 94(3):630–638, 1954.
- [26] S. Meiboom and D. Gill. Modified Spin-Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times. *Rev. Sci. Instruments*, 29(8):688–691, August 1958.
- [27] Ray Freeman and H. D. W. Hill. High Resolution Study of NMR Spin Echoes: J-Spectra. *J. Chem. Phys.*, 54(1):301–313, January 1971.

- [28] L. Buljubasich, I. Prina, M. B. Franzoni, K. Münnemann, H. W. Spiess, and R. H. Acosta. High resolution para-hydrogen induced polarization in inhomogeneous magnetic fields. *J. Magn. Reson.*, 230(0):155 – 159, 2013.
- [29] Malcolm H Levitt. *Spin dynamics : basics of nuclear magnetic resonance*. John Wiley & Sons, Chichester, England; Hoboken, NJ, 2008.
- [30] Richard R Ernst, Geoffrey Bodenhausen, and Alexander Wokaun. *Principles of nuclear magnetic resonance in one and two dimensions*. Clarendon Press ; Oxford University Press, Oxford [Oxfordshire]; New York, 1987.
- [31] Linus Pauling and Edgar Bright Wilson. *Introduction to quantum mechanics: with applications to chemistry*. Dover, New York, NY, unabridged and unaltered republ. of the ed. publ. 1935 by mcgraw-hill, new york. [nachdr.] edition, 2011.
- [32] Clifford R. Bowers. Sensitivity Enhancement Utilizing Parahydrogen. In Robin K. Harris, editor, *Encyclopedia of Magnetic Resonance*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, March 2007.
- [33] K. F. Bonhoeffer and P. Harteck. Experimente über Para- und Orthowasserstoff. *Die Naturwissenschaften*, 17(11):182–182, March 1929.
- [34] Johannes Natterer and Joachim Bargon. Parahydrogen induced polarization. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 31(4):293–315, November 1997.
- [35] Maurice Goldman, Haukur Jóhannesson, Oskar Axelsson, and Magnus Karlsson. Hyperpolarization of ^{13}C through order transfer from parahydrogen: A new contrast agent for MRI. *Magn. Reson. Imaging*, 23(2):153–157, February 2005.
- [36] I. Prina, L. Buljubasich, and R.H. Acosta. Parahydrogen discriminated PHIP at low magnetic fields. *J. Magn. Reson.*, 251:1–7, February 2015.
- [37] Lisandro Buljubasich, María Belén Franzoni, and Kerstin Münnemann. parahydrogen Induced Polarization by Homogeneous Catalysis: Theory and Applications. In Lars T. Kuhn, editor, *Hyperpolarization Methods in NMR Spectroscopy*, volume 338 of *Topics in Current Chemistry*, pages 33–74. Springer Berlin Heidelberg, 2013.

- [38] J. Natterer, O. Schedletsky, J. Barkemeyer, J. Bargon, and S.J. Glaser. Investigating Catalytic Processes with Parahydrogen: Evolution of Zero-Quantum Coherence in AAX Spin Systems. *J. Magn. Reson.*, 133(1):92–97, July 1998.
- [39] Daniel Canet, Sabine Bouguet-Bonnet, Christie Aroulanda, and Francesca Reineri. About Long-Lived Nuclear Spin States Involved in Para-Hydrogenated Molecules. *J. Am. Chem. Soc.*, 129(5):1445–1449, February 2007.
- [40] S. E. Korchak, K. L. Ivanov, A. V. Yurkovskaya, and H.-M. Vieth. Para-hydrogen induced polarization in multi-spin systems studied at variable magnetic field. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 11(47):11146, 2009.
- [41] Johannes Natterer and Joachim Bargon. Parahydrogen induced polarization. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 31(4):293–315, November 1997.
- [42] J. A. Osborn, F. H. Jardine, J. F. Young, and G. Wilkinson. The preparation and properties of tris(triphenylphosphine)halogenorhodium(I) and some reactions thereof including catalytic homogeneous hydrogenation of olefins and acetylenes and their derivatives. *J. Chem. Soc. A: Inorganic, Phys. Theor.*, page 1711, 1966.
- [43] Jan-Bernd Hövener, Eduard Y. Chekmenev, Kent C. Harris, William H. Perman, Larry W. Robertson, Brian D. Ross, and Pratip Bhattacharya. PASADENA hyperpolarization of ^{13}C biomolecules: equipment design and installation. *Magn. Reson. Mater. Physics, Biol. Medicine*, 22(2):111–121, April 2009.
- [44] Roman V. Shchepin, Aaron M. Coffey, Kevin W. Waddell, and Eduard Y. Chekmenev. Parahydrogen-Induced Polarization with a Rh-Based Monodentate Ligand in Water. *J. Phys. Chem. Lett.*, 3(22):3281–3285, November 2012.
- [45] Igor V. Koptug, Kirill V. Kovtunov, Scott R. Burt, M. Sabieh Anwar, Christian Hilty, Song-I Han, Alexander Pines, and Renad Z. Sagdeev. para-Hydrogen-Induced Polarization in Heterogeneous Hydrogenation Reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, 129(17):5580–5586, May 2007.

- [46] Louis-S. Bouchard, Scott R. Burt, M. Sabieh Anwar, Kirill V. Kovtunov, Igor V. Koptug, and Alexander Pines. NMR Imaging of Catalytic Hydrogenation in Microreactors with the Use of para-Hydrogen. *Sci.*, 319(5862):442–445, January 2008.
- [47] Vladimir V. Zhivonitko, Kirill V. Kovtunov, Ivan V. Skovpin, Danila A. Barskiy, Oleg G. Salnikov, and Igor V. Koptug. *Catalytically Enhanced NMR of Heterogeneously Catalyzed Hydrogenations*, pages 145–186. Wiley-VCH Verlag GmbH-Co. KGaA, 2014.
- [48] Jogeshwar Mukherjee, Bradley T. Christian, Kelly A. Dunigan, Bingzhi Shi, Tanjore K. Narayanan, Martin Satter, and Joseph Mantil. Brain imaging of 18f-fallypride in normal volunteers: Blood analysis, distribution, test-retest studies, and preliminary assessment of sensitivity to aging effects on dopamine D-2/D-3 receptors. *Synap.*, 46(3):170–188, December 2002.
- [49] I. Prina, L. Buljubasich, and R. H. Acosta. High-Resolution Hyperpolarized J-Spectra with Parahydrogen Discrimination. *J. Phys. Chem. Lett.*, 4(22):3924–3928, 2013.
- [50] Lisandro Buljubasich, Ignacio Prina, M. Belén Franzoni, and Rodolfo H. Acosta. Discrimination of parahydrogen induced polarization signals with J-spectra acquisition in poorly hyperpolarized samples. *Microporous Mesoporous Mater.*, 205:21–23, March 2015.
- [51] E. L. Hahn. Spin Echoes. *Phys. Rev.*, 80(4):580–594, November 1950.
- [52] J G Powles and A Hartland. The Measurement of Indirect (J) Coupling between Nuclei in Liquids in Magnetic Resonance by the Transient Method. *Proc. Phys. Soc.*, 77(2):273–277, February 1961.
- [53] Adam Allerhand. Analysis of Carr-Purcell Spin-Echo NMR Experiments on Multiple-Spin Systems. I. The Effect of Homonuclear Coupling. *J. Chem. Phys.*, 44(1):1–9, January 1966.
- [54] Tadashi Tokuhiro and Gideon Fraenkel. Modulation of Spin Echoes in Multi-Half-Spin Systems. I. Closed Formulas of Carr-Purcell Spin Echoes in Several AaBXx Systems. *J. Chem. Phys.*, 49(9):3998–4008, November 1968.

- [55] María Belén Franzoni, Lisandro Buljubasich, Hans W. Spiess, and Kerstin Münnemann. Long-Lived 1h Singlet Spin States Originating from Para-Hydrogen in Cs-Symmetric Molecules Stored for Minutes in High Magnetic Fields. *J. Am. Chem. Soc.*, 134(25):10393–10396, June 2012.
- [56] Terry Gullion, David B Baker, and Mark S Conradi. New, compensated Carr-Purcell sequences. *J. Magn. Reson. (1969)*, 89(3):479–484, October 1990.
- [57] María Belén Franzoni and Patricia R. Levstein. Manifestations of the absence of spin diffusion in multipulse nmr experiments on diluted dipolar solids. *Phys. Rev. B*, 72:235410, Dec 2005.
- [58] Deborah Burstein. Stimulated echoes: Description, applications, practical hints. *Concepts Magn. Reson.*, 8(4):269–278, 1996.
- [59] Dirk Graafen, Sandro Ebert, Oliver Neudert, Lisandro Buljubasich, María Belén Franzoni, Jan Falk Dechent, and Kerstin Münnemann. Chapter four - 1h {NMR} spectroscopy and {MR} imaging with hyperpolarised substances. In Graham A. Webb, editor, *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, volume 82 of *Annual Reports on {NMR} Spectroscopy*, pages 167 – 215. Academic Press, 2014.
- [60] Rodolfo H. Acosta, Ignacio Prina, and Lisandro Buljubasich. Chapter 9 high-resolution spectra in phip. In *Gas Phase NMR*, pages 304–335. The Royal Society of Chemistry, 2016.
- [61] Igor V. Koptug, Kirill V. Kovtunov, Scott R. Burt, M. Sabieh Anwar, Christian Hilty, Song-I Han, Alexander Pines, and Renad Z. Sagdeev. para-Hydrogen-Induced Polarization in Heterogeneous Hydrogenation Reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, 129(17):5580–5586, May 2007.
- [62] Kirill V. Kovtunov, Vladimir V. Zhivonitko, Ivan V. Skovpin, Danila A. Barskiy, and Igor V. Koptug. Parahydrogen-Induced Polarization in Heterogeneous Catalytic Processes. In Lars T. Kuhn, editor, *Hyperpolarization Methods in NMR Spectroscopy*, volume 338, pages 123–180. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2012.

- [63] Ville-Veikko Telkki, Vladimir V. Zhivonitko, Susanna Ahola, Kirill V. Kovtunov, Jukka Jokisaari, and Igor V. Koptug. Microfluidic Gas-Flow Imaging Utilizing Parahydrogen-Induced Polarization and Remote-Detection NMR. *Angewandte Chemie Int. Ed.*, 49(45):8363–8366, November 2010.
- [64] Kirill V. Kovtunov, Danila A. Barskiy, Aaron M. Coffey, Milton L. Truong, Oleg G. Salnikov, Alexander K. Khudorozhkov, Elizaveta A. Inozemtseva, Igor P. Prosvirin, Valery I. Bukhtiyarov, Kevin W. Waddell, Eduard Y. Chekmenev, and Igor V. Koptug. High-Resolution 3d Proton MRI of Hyperpolarized Gas Enabled by Parahydrogen and Rh/TiO₂ Heterogeneous Catalyst. *Chem. - A Eur. J.*, 20(37):11636–11639, September 2014.
- [65] Paul P. Zänker, Jochen Schmidt, Jörg Schmiedeskamp, Rodolfo H. Acosta, and Hans W. Spiess. Spin Echo Formation in the Presence of Stochastic Dynamics. *Phys. Rev. Lett.*, 99(26), December 2007.
- [66] Paul T. Callaghan. *Translational dynamics and magnetic resonance: principles of pulsed gradient spin echo NMR*. Oxford Univ. Press, Oxford, 2011. OCLC: 707202987.
- [67] L. Agulles-Pedrós, R.H. Acosta, P. Blümli, and H.W. Spiess. Resolution enhancement in MRI of laser polarized ³He by control of diffusion. *J. Magn. Reson.*, 197(1):56–62, March 2009.

Índice de tablas

4.1. A medida que el sistema de espines se <i>aleja</i> de la condición ideal AX ($\zeta_{12} \gg 1$), la intensidad de la señal PHIP disminuye.	51
5.1. Diferentes ciclados de fase para las secuencias CP y CPMG.	69
5.2. Parámetros utilizados para realizar la simulación numérica de la reacción de 1-hexyne a 1-hexene y los espectros de la Fig. 5.10.	71

Índice de figuras

3.1. Esquema de un sistema de dos niveles. (Izquierda) Polarización térmica. (Derecha) Hiperpolarización	4
3.2. Esquema de los diferentes tipos de hidrogenación con parahidrógeno y las diferencias en los espectros de RMN obtenidos	6
3.3. Esquema del efecto de la inhomogeneidades de campo en las señales térmicas y PHIP. (A) Espectros simulados con diferentes FWHM. (B) Integrales de los espectros en función de los FWHM, se puede apreciar como la señal PHIP disminuye su intensidad a medida que el campo es mas inhomogeneo.	7
3.4. Espectro ^1H de etanol. (Izquierda) Parte real e imaginaria de la FID obtenida luego del pulso de rf. (Derecha) Espectro luego de realizar la FFT, donde se discrimina cada pico correspondiente a las diferentes frecuencias de resonancia de la molécula. El decaimiento de la señal depende del tiempo de relajación T_2^* el cual afectará directamente el ancho de linea lw del espectro de RMN.	11
3.5. Espectro simulado ^1H de etanol con $lw = 1$ Hz.	12
3.6. Esquema de niveles de un sistema de espines A_2	17
3.7. Esquema de niveles y espectros de RMN de un sistema de espines AX con $J > 0$ y $\gamma > 0$	17
3.8. Simulaciones de espectros de RMN de en un sistema de dos espines acoplados con $J_{12} = 10$ Hz en un campo de 7 Tesla. Si la deparación es $\Delta\nu = 450$ Hz, obtenemos un sistema puramente a AX y si $\Delta\nu = 2$ Hz el resultado es un sistema de espines magnéticamente equivalentes y por lo tanto el espectro será un solo pico. Cualquier caso intermedio podrá ser visto como un sistema AB . Los detalles de la simulación de explicarán mas adelante.	19

3.9. Cantidad de pH_2 en función de la temperatura del gas. Se observa que a 77 K la fracción de para-orto H_2 es aproximadamente la misma. Como se verá en el siguiente capítulo, esta cantidad es suficiente como para obtener una señal PHIP.	26
4.1. Esquema de la hidrogenación con abundancia natural de pH_2 . El sistema de espines los sufre una transformación de un sistema $A2$ a uno AX resultando en un espectro de RMN similar al de la Fig.3.7 con una intensidad que depende del factor e . Notar que solo se grafican las señales provenientes del pH_2 y no el resto de la molécula. .	30
4.2. Esquema de la hidrogenación dentro del espectrómetro con hidrógeno enriquecido en su estado pH_2	31
4.3. Esquema de la hidrogenación fuera del espectrómetro con hidrógeno enriquecido en su estado pH_2 . Si la transferencia de la muestra luego de la incorporación del hidrógeno se realiza adiabáticamente, el exceso de población proveniente del estado $ S_0\rangle$ se transfiere solo al nivel $ \beta\alpha\rangle$	31
4.4. Cálculo del incremento de la señal PHIP en función del porcentaje de pH_2 para dos campos magnéticos diferentes. Se puede ver como la hiperpolarización es cero a temperatura ambiente ($N_{pH_2} = 1/4$) y aumenta a medida que el campo magnético es mas pequeño.	34
4.5. Espectro PASADENA simulado en un sistema de dos espines débilmente acoplados con $\Delta\nu = 2$ ppm y $J_{12} = 10$ Hz en un campo $B_0 = 7$ T.	37
4.6. Valores de expectación para los diferentes operadores durante la reacción química en un sistema AX . Para tiempos de reacción lo suficientemente largos, los valores de expectación $\langle ZQ_x \rangle$ y $\langle ZQ_y \rangle$ se desvanecen. Tanto $\langle I_1^z \rangle$ como $\langle I_2^z \rangle$ son cero durante toda la reacción. Finalmente, el único valor de expectación que sobrevive es $\langle I_1^z I_2^z \rangle$, el cual se mantiene constante en -1 y aportará la señal PHIP resultante.	38
4.7. Valores de expectación para los diferentes operadores durante la reacción química en un sistema AB	39
4.8. Espectro PASADENA simulado en un sistema de dos espines fuertemente acoplados con $\Delta\nu = 0.1$ ppm y $J_{12} = 10$ Hz en un campo $B_0 = 7$ T.	40
4.9. Espectro ALTADENA simulado en un sistema de dos espines débilmente acoplados con $\Delta\nu = 2$ ppm y $J_{12} = 10$ Hz en un campo $B_0 = 7$ T.	41

4.10. Esquema de hidrogenación de una molécula orgánica con triple enlace donde se forma un sistema de tres espines acoplados. Se indican de color rojo los hidrógenos que provienen del pH_2	42
4.11. Espectro PASADENA simulado a campo alto de ácido propiónico luego de reaccionar. Se observa que parte de la polarización proveniente del pH_2 (H_1 y H_2) se transfiere al tercer espín H_3	43
4.12. Esquema del arreglo experimental utilizado para enriquecer H_2 en un 50 % de estado pH_2 . Descripción en el texto. Para mayor información consultar el Apéndice. . . .	45
4.13. Generador de parahidrógeno comercial Bruker, único en el mercado.	45
4.14. Catalizador soluble en acetona utilizado en los experimentos PHIP en fase líquida.	47
4.15. Esquema de la hidrogenación con pH_2 de hexyne a hexene.	48
4.16. Esquema de la hidrogenación con pH_2 de diferentes biomoléculas. Para mayor simplicidad, nombraremos como <i>BioMol1</i> a la molécula luego de la reacción en (A) y <i>BioMol2</i> a la molécula en (B)	49
4.17. Esquema del los arreglos experimentales para incorporar pH_2 a la muestra. (A) Burbujeo de pH_2 directamente sobre la muestra a presión y temperatura ambiente. Este sistema es mucho mas precario, pero sumamente fácil y barato de construir, y como se verá en los siguientes capítulos, se utilizó satisfactoriamente para desarrollar la técnica PhD-PHIP. (B) Sistema utilizado para incorporar pH_2 a alta presión (9 Bar) sin burbujas utilizando tubos permeables de teflón. Permite ajustar la presión dentro del tubo de RMN utilizando N_2 . De esta forma, se tiene mayor control sobre la reacción, se puede variar la temperatura y todo el sistema se encuentra libre de oxígeno.	51
4.18. Espectros de alta resolución antes y después de la hidrogenación con pH_2 de 1/2/3-hexyne utilizando el arreglo experimental (A) (ver Fig. 4.17). Se monitoreó toda la reacción química con una FID mientras se incorporaba pH_2 al 92 %. Se muestran las integrales de los picos H_1 y $H_{2,3}$ para cada FID adquirida en función del tiempo de reacción con un pulso $\pi/4$. Los espectros mostrados corresponden al máximo de la señal PHIP obtenida en toda la reacción(punto rojo).	52

4.19. (A) Espectros antes y después de la hidrogenación con pH_2 de <i>BioMol1</i> utilizando el arreglo experimental (B) (ver Fig. 4.17). (B) Lo mismo que en (A) pero utilizando la molécula <i>BioMol2</i>	54
4.20. Espectros de baja resolución después de la hidrogenación con pH_2 de 1-hexyne utilizando el arreglo experimental (A) (ver Fig. 4.17).	54
5.1. Esquema de la secuencia CPMG. La línea punteada corresponde al decaimiento del máximo de cada eco adquirido, los cuales decae exponencialmente con $T_2 \gg T_2^*$ en líquidos.	57
5.2. Esquema de la secuencia CPMG.	58
5.3. Modulación de los ecos bajo la secuencia de pulsos CPMG debido al acoplamiento- J entre dos espines magnéticamente equivalentes, desacoplados no equivalentes y acoplados débilmente.	61
5.4. (A) Espectro simulado luego de un pulso de r.f para un sistema aislado de dos espines débilmente acoplados. Se muestra el desplazamiento químico y el acoplamiento- J . (B) Espectro- J simulado utilizando el mismo sistemas de espines pero ahora bajo una secuencia CPMG. Los puntos rojos corresponden al máximo de cada eco, los cuales se adquieren estroboscópicamente para luego realizar una transformada de Fourier. (C) Separación del los picos en el espectro- J en función del tiempo de eco de la CPMG. Solo para valores grandes de t_E es posible obtener el verdadero acoplamiento- J	64
5.5. Simulaciones numéricas para un sistema de tres espines débil (izquierda) y fuertemente (derecha) acoplados con los siguientes parámetros: $J_{12} = 10$ Hz, $J_{13} = 6$ Hz, $J_{23} = 0$ Hz, y un campo magnético que satisface $\Delta\nu_{12}/J_{12} = 100$ (débil) y $\Delta\nu_{12}/J_{12} = 5$ (fuerte). Bajo el acoplamiento fuerte, el espectros dependen fuertemente del tiempo de eco de la CPMG. Para comprar los espectros, cada uno fue normalizado a su intensidad máxima.	65

- 5.6. **(Izquierda)** Simulación de un espectro de alta resolución del etanol y esquema de la molécula. **(Centro)** Espectros- J simulado y medido experimentalmente sin filtro digital. Se observa como todas las líneas de resonancias colapsan al centro del espectro. Las bajas intensidades de las líneas del grupo metileno se deben a los efectos de fuera de resonancia en los pulsos de π , ya que los experimentos se realizaron centrados en el grupo metilo. **(Derecha)** Espectros- J parciales realizados a cada grupo de protones de la molécula, donde las intensidades concuerdan perfectamente con las simulaciones, ya que cada espectro- J parcial fue adquirido en resonancia. 67
- 5.7. Comparación de un espectro usual de RMN en etanol con un espectro- J parcial modificando la inhomogeneidad del campo B_0 utilizando las bobinas de shimming. Se puede observar como la inhomogeneidad del campo externo no afecta a los espectros- J de cada pico aun cuando el espectro usual es de muy baja resolución. 68
- 5.8. Espectros- J de etanol para diferentes tamaños de muestra. Se observa como afecta la inhomogeneidad del pulso de π al espectro a medida que el tamaño de muestra aumenta con respecto a la bobina de detección. 69
- 5.9. Espectros- J parciales de etanol para diferentes ciclados de fase. Se observa parte del triple del grupo Metilo en el espectro- J del Metileno, esto ocurre por la ineficiencia del filtro digital que se utilizó. 70
- 5.10. **(A)** Esquema de la hidrogenación con pH_2 del 1-hexyne. **(B)** Simulaciones del espectro usual PHIP y de los espectros- J parciales de cada pico. **(C)** Datos experimentales de un espectro usual PHIP y de los espectros- J parciales obtenidos aplicando un filtro digital 500 Hz en cada pico (barras horizontales) con $t_E = 8$ ms 72
- 5.11. Comparación de un espectro- J y un espectro usual, experimental y simulado, de alta resolución. Se puede observar un pico en antifase de mas en el centro del espectro- J , esto ocurre porque el sistema de espines no es un sistema completamente AX. 73
- 5.12. **(Arriba)** Esquema de la secuencia de pulsos. **(Centro)** Subespacios expandidos por el producto de los operadores de espín correspondientes al acoplamiento escalar; **(Abajo)** Evolución de un solo operador de espín durante la formación de dos ecos consecutivos, donde se representa la alteración de la fase en las señales PHIP. 76

5.13. (A) Simulaciones de la evolución de la parte real de una señal térmica y PHIP durante una CPMG en un sistema AX . (B) Espectros obtenidos sin realizar el <i>shift</i> en la Transformada de Fourier. (C) Espectros obtenidos realizando el <i>shift</i> en la Transformada de Fourier.	78
5.14. Experimento de la separación de la señal PHIP y térmica mezclando físicamente 1-Hexyne y Diclorometano utilizando el arreglo experimental de la Fig. 4.17 (A). .	81
5.15. Experimento de la separación de la señal PHIP y térmica mezclando físicamente 1-hexyne y 1-hexene. (A) Espectros para 66 % 1-hexene y 33 % 1-hexyne. (B) Espectros luego de la hidrogenación con pH_2 . (C) Espectros luego de 20 ciclos de burbujeo y medición, donde gran parte de la muestra se ha evaporado y la mayor parte del 1-hexyne a reaccionado a 1-hexene, incrementando la proporción de 1-hexene.	83
5.16. Espectros- J parciales de ambas Biomoléculas. Se utilizó un filtro digital de 500 Hz y un tiempo de eco $t_E = 8$ ms. Debido a la complejidad del sistema, no fue posible realizar simulaciones con un número acotado de espines. En el caso de la <i>BioMol2</i> , no solo existe transferencia de hiperpolarización a otros espines de la molécula, sino que también la hidrogenación del grupo carbonilo produce una señal PHIP que afecta directamente a la señal de los protones H_1 y $H_{2,3}$	84
5.17. (A) Simulación de un espectro espín-eco usando un sistema AB a campo bajo. (B) Igual que (A) pero agregando un operador térmico al estado inicial PHIP de la ec. 5.41. (C) Simulación de un espectro espín-eco en un sistema ABC . (D) Igual que el anterior pero con el operador un térmico agregado a ρ_0^{ABC}	87
5.18. Espectros antes y después de la reacción de 1-hexyne a 1-hexene con pH_2 a campo bajo.	88
5.19. (A) Espectro espín-eco antes de la hidrogenación y después (B) de la hidrogenación con pH_2 con $t_E = 15$ ms sin filtro digital. (C) Simulación del espectro espín-eco utilizando un sistema de 7 espines acoplados.	89
5.20. Espectros espín-eco para diferentes tiempos de eco. Para t_E cortos la evolución con el acoplamiento- J se perturba debido a los pulsos de r.f. Izquierda Espectros espín-eco de una fracción 1-hexene hiperpolarizado en 1-hexyne térmico. Derecha Espectros espín-eco de 1-hexene con polarización térmica diluido en acetona-d6. . .	90

- 5.21. Reacción de 1-hexyne a 1-hexene monitoreada con PhD-PHIP en un campo $B_0 = 0.45$ T. Ver descripción en el texto. 92
- 5.22. **(A)** Esquema de la hidrogenación con pH_2 del propeno. Existen solo dos posiciones de desplazamiento químico ($\nu_1 = 1.336$ ppm y $\nu_2 = 0.899$ ppm) y todos los espines están acoplados con una constante $J = 7.4$ Hz. **(B)** Espectro de RMN simulados para muestras de propano polarizada térmicamente y PHIP con un ancho de línea $lw = 1$ Hz. **(C)** Influencia del ensanchamiento de la línea en los espectros térmicos y PHIP. Se observa una disminución en la intensidad del espectro comparada con **(B)**, la cual se acentúa cuando la señales proviene de un sistema PHIP. 94
- 5.23. Simulaciones de espectros- J en propano. Columna izquierda: Térmicos. Columna derecha: PHIP. **(A)** Espectros- J de ambos picos, la falta de desplazamiento químico induce al colapso de las líneas, lo que resulta en una pérdida de información. **(B)** Espectros- J parciales correspondiente al grupo CH_3 . **(C)** Espectros- J parciales correspondiente al grupo CH_3 . Notar que todos los gráficos están normalizados a los espectros- J térmicos y PHIP respectivamente. 96
- A.1. **(A)** Arreglo experimental utilizado para la obtención de parahidrógeno. **(B)** Filtro utilizado a la salida y entrada del gas hidrógeno. **(C)** Cámara de atmósfera controlada con flujo constante de nitrógeno en donde se realizaron las muestras. . . 100